



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA
Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

**La dermatite atopica nel cane:
valutazione critica del trattamento**

Candidato:

Alice Capodici

Relatore:

Prof. Michele Corazza

Correlatore:

Prof.ssa Grazia Guidi

ANNO ACCADEMICO 2013-2014

*A mio nonno,
il ricordo più bello
della mia vita...
oggi mio Angelo Custode.*

Indice

Riassunto & Abstract.....	pag. 6
--------------------------------------	---------------

PARTE GENERALE

Introduzione.....	pag. 9
--------------------------	---------------

Capitolo 1. La pelle e la sua funzione.....	pag. 11
--	----------------

1.1 Struttura dell'epidermide.....	pag. 11
1.2 Struttura del derma.....	pag. 13
1.3 Annessi cutanei.....	pag. 14
1.4 Funzioni della pelle.....	pag. 17
1.5 Microflora cutanea.....	pag. 18
1.6 Caratteristiche generali delle risposte immunitarie.....	pag. 21
1.7 Il sistema immunitario associato alla pelle.....	pag. 24
1.7.1 I Cheratinociti.....	pag. 24
1.7.2 Le Cellule di Langherans.....	pag. 25
1.7.3 I Linfociti.....	pag. 25
1.7.4 I Macrofagi tissutali.....	pag. 28
1.7.5 Le Cellule endoteliali.....	pag. 28
1.7.6 I Mastociti.....	pag. 29
1.7.7 I Neutrofili.....	pag. 31
1.7.8 Gli Eosinofili.....	pag. 32
1.7.9 Il Complemento.....	pag. 34
1.7.10 Le Citochine.....	pag. 34
1.7.11 Gli Eicosanoidi.....	pag. 36
1.7.12 I Neutropeptidi.....	pag. 38
1.7.13 I Peptidi antimicrobici.....	pag. 40
1.8 Reazioni di ipersensibilità.....	pag. 40

Capitolo 2. La dermatite atopica	pag. 44
2.1 Epidemiologia.....	pag. 45
2.2 Eziopatogenesi.....	pag. 46
2.3 Sintomatologia.....	pag. 50
2.4 Concetto della soglia del prurito.....	pag. 53
2.5 Ruolo delle infezioni nella DA.....	pag. 54
 Capitolo 3. Approccio diagnostico alla dermatite atopica..	pag 57
3.1 Diagnosi della DA.....	pag. 57
3.2 Criteri diagnostici: Prelaud e Favrot.....	pag. 60
3.3 Biopsia cutanea ed esame istopatologico.....	pag. 65
3.4 Diagnostica differenziale.....	pag. 66
3.4.1 Demodicosi.....	pag. 66
3.4.2 Rogna sarcoptica.....	pag. 69
3.4.3 Allergia al morso di pulce.....	pag. 71
3.4.4 Reazioni cutanee avverse al cibo.....	pag. 74
3.4.5 Dermatite da contatto.....	pag. 80
 Capitolo 4. Approccio terapeutico.....	pag. 83
4.1 Riduzione dell'esposizione allergenica.....	pag. 83
4.2 La shampoo-terapia.....	pag. 84
4.3 Antinfiammatori steroidei topici e sistemici.....	pag. 96
4.4 Antinfiammatori non steroidei.....	pag. 103
4.4.1 Antistaminici.....	pag. 103
4.4.2 Inibitori della calcineurina.....	pag. 107
4.4.3 Altri antinfiammatori sistemici non steroidei.....	pag. 121
4.5 Gli acidi grassi essenziali.....	pag. 122
4.6 PEA (Palmitoiletanolamide).....	pag. 127
4.7 Novità terapeutiche: Oclacitinib.....	pag. 129
4.8 Test allergometrici e immunoterapia.....	pag. 134

PARTE SPERIMENTALE

Capitolo 5. Materiali e metodi.....pag.144

- 5.1 Territorio e periodo dell'indagine.....pag. 144
- 5.2 Visita clinica e criteri di inclusione dei soggetti.....pag. 144
- 5.3 Esclusione delle principali diagnosi differenziali.....pag. 146
- 5.4 Criteri diagnostici.....pag. 147
- 5.5 Prescrizioni terapeutiche.....pag. 150

Capitolo 6. Risultati.....pag. 151

- 6.1 Prevalenza nei due sessi.....pag. 151
- 6.2 Prevalenza di razza.....pag. 151
- 6.3 Età della diagnosi.....pag. 153
- 6.4 Valutazione mediante CADESI.....pag. 154
- 6.5 Valutazione mediante Rybniceck.....pag. 156
- 6.6 Scelta del protocollo terapeutico.....pag. 158

Capitolo 7. Conclusioni e Discussioni.....pag. 160

Bibliografia.....pag. 164

Ringraziamenti.....pag. 180

Riassunto

Parole chiave: Cane, dermatite atopica, prurito, trattamento.

La Dermatite atopica è una dermatosi comune nel cane che affligge circa il 15% dell'intera popolazione canina, di qualunque razza e sesso. E' definita come una malattia cutanea pruriginosa e infiammatoria con predisposizione genetica, aspetti clinici caratteristici e associata all'aumentata sintesi di anticorpi IgE.

La diagnosi di Dermatite atopica è basata principalmente sul segnalamento del paziente, sull'anamnesi, sui segni clinici e sull'esclusione di altre malattie e non sulla base di test di laboratorio.

La maggior parte dei cani atopici inizia a manifestare i sintomi tra i sei mesi e i tre anni d'età. Le lesioni cutanee primarie consistono in macule eritematose e piccole papule. La maggior parte dei pazienti tuttavia, si presenta con lesioni dermatologiche a causa dell'autotrauma indotto dal prurito, quali per esempio escoriazioni, alopecia autoindotta, mentre la lichenificazione e l'iperpigmentazione sono le conseguenze croniche del processo infiammatorio. Le aree più colpite sono: faccia, parte concava del padiglione auricolare, collo ventrale, ascelle, inguine, addome, perineo, spazi interdigitali. La lacrimazione congiuntivite e otite esterna aggravano il quadro clinico.

Lo scopo della presente tesi è stato quello di valutare l'efficacia delle varie forme di trattamento nei cani condotti per una visita dermatologica presso l'Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" di San Piero a Grado, nel periodo compreso tra ottobre 2012 e settembre 2014. La diagnosi di dermatite atopica è stata formulata dopo valutazione dei dati anamnestici, dei segni clinici e dopo l'esclusione delle principali diagnosi differenziali. Fra i cani selezionati è risultata una prevalenza delle femmine (51.3%) sui maschi (48.7). Le razze più rappresentate nel nostro gruppo di studio sono state il Labrador (13,82%), Pastore Tedesco (10,53%), Boxer (5,92%) e West Highland W.T. (4,61%).

Le lesioni più rappresentate sono state: eritema, prurito, congiuntivite, follicolite/pioderma, otite esterna, lichenificazione, iperpigmentazione.

Nella maggior parte dei casi (73,03%) l'età d'insorgenza è risultata superiore a 3 anni.

Di tutti i soggetti atopici, il 75% è stato trattato con glucocorticoidi, il 15,13% con ciclosporina, l'1,31% con Oclacitinib, la restante parte con altri farmaci.

Abstract

Key words: dog, atopic dermatitis, itch, treatment.

Atopic dermatitis is a common skin conditions in dogs that affects about 15% of the canine population, of any breed and sex. It is defined as an itchy rash and inflammatory disease with genetic predisposition, characteristic clinical aspects and associated with the increased synthesis of IgE antibodies .

The diagnosis of atopic dermatitis is based primarily on the patient's signaling, on history, on clinical signs and exclusion of other disorders and not on the basis of laboratory tests.

Most of atopic dogs begins to show symptoms between six months and three years of age.

The primary skin lesions consist of erythematous macules and small papules.

Most patients, however, it presents with skin lesions caused of autotrauma induced pruritus, what, for example, bruises, self-induced alopecia, while the lichenification and hiperpigmentation are the consequences of the chronic inflammatory process. The most affected areas are: face, concave part of the ear, ventral neck, armpits, groin, abdomen, perineum, interdigital spaces. The conjunctival tearing and external otitis aggravating the clinical picture.

The purpose of this thesis was to evaluate the effectiveness of various forms of treatment in dogs conducted to a dermatological examination at Veterinary Teaching Hospital "Mario Modenato" S Piero a Grado, in the period of time between October 2012 and september 2014.

The diagnosis of atopic dermatitis was made after evaluating the medical records, clinical signs and after the exclusion of the main differential diagnosis. Among the dogs selected was a predominance of female (51.3%) on the males (48.7%).

The breeds most represented in our study group were the Labrador (13,82%), German shepherd (10,53%), Boxer (5,92%), West Highland W.T (4,61%).

The lesions most frequently performer were erythema, pruritus, conjunctivitis, folliculitis/pyoderma, otitis externa, lichenification and hiperpigmentation.

In most cases (73,03%) the age of onset was upper 3 years.

Of all the atopic cases 75% were treated with glucocorticoids, 15,13% with cyclosporine, 1,31% with oclacitinib and the remaining percentage with other kinds of drugs.

PARTE GENERALE

Introduzione

La dermatite atopica (atopic dermatitis, AD) rappresenta la più comune patologia cutanea del cane, colpendo circa il 15% della popolazione, di qualunque sesso e razza.

E' una malattia infiammatoria e pruriginosa con predisposizione genetica, associata alla sintesi di anticorpi E (IgE) diretti più frequentemente verso allergeni ambientali, i quali vengono combattuti esageratamente dal sistema immunitario. La maggior parte dei cani atopici inizia a manifestare i sintomi tra i sei mesi e i tre anni di età.

Le lesioni cutanee primarie di solito consistono in macule eritematose e piccole papule. La maggior parte dei pazienti tuttavia, si presenta con lesioni che si sviluppano a causa del trauma indotto dal prurito, come per esempio escoriazioni, alopecia autoindotta, lichenificazione e iperpigmentazione.

Le aree corporee più frequentemente colpite sono: faccia, parte concava del padiglione auricolare, parte ventrale del collo, ascelle, inguine, addome, perineo, parte ventrale della coda, superfici flessorie, faccia mediale delle estremità, faccia dorsale e palmare/plantare delle zampe, regione perioculare, regione perilabiale e perinatale.

La diagnosi di DA è basata principalmente sul segnalamento del paziente, sui segni clinici e sull'anamnesi della malattia, e non sulla base di test di laboratorio.

La dermatite atopica è una diagnosi basata sul reperto di un insieme di dati anamnestici e segni clinici tipici, e sull'esclusione della presenza di altre malattie che potrebbero mimare i segni clinici.

E' particolarmente importante riconoscere che altre dermatosi possono mimare AD, o essere sovrapposte a essa. Queste malattie sono solitamente parassitarie (specialmente rogna sarcoptica, e occasionalmente demodicosi), infettive (es. le piodermiti superficiali da Stafilococco, la dermatite da Malassezia) o di altra origine allergica.

Prima di effettuare la diagnosi di DA si deve valutare la presenza di queste malattie, e quando presenti, trattate adeguatamente. Il trattamento della DA canina deve essere adattato individualmente ad ogni paziente. I protocolli di terapia dovrebbero dipendere principalmente dal tipo di lesioni che devono essere trattate, siano queste lesioni cutanee acute o croniche di DA, e dai segni clinici, localizzati o generalizzati.

Esistono di versi farmaci utilizzabili in corso di DA: glucocorticoidi topici o sistemici, antistaminici, immunomodulatori (ciclosporina, oclacitinib, tacrolimus), immunoterapia.

E' importante associare alla terapia farmacologia, la shampoo-terapia al fine di migliorare temporaneamente la sintomatologia cutanea.

Lo studio è servito a reclutare, in via retrospettiva e prospettiva, i casi clinici presentati presso il Dipartimento di Clinica Veterinaria in un periodo di circa due anni.

Ai pazienti è stata diagnosticata in sede ambulatoriale una DA, escludendo tutte le altre possibili cause di dermatosi. Per ogni paziente è stato formulato un piano terapeutico individuale. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la risposta di ogni singolo paziente alla terapia farmacologica formulatagli, per definire quale farmaco, tra i diversi presenti in commercio, si presta meglio a ridurre i sintomi della DA.

Capitolo 1. La pelle e la sua funzione

La pelle è l'organo più esteso del corpo e lo riveste interamente continuandosi con le mucose dell'apparato digerente, respiratorio, urogenitale e congiuntivale.

È costituita dall'epidermide di origine ectodermica, dal derma di origine mesodermica e dagli annessi cutanei (follicoli piliferi e peli, ghiandole sudoripare e sebacee, muscoli pilo erettori e unghie).

1.1 Struttura dell'epidermide

L'epidermide è un tipo di *epitelio pavimentoso stratificato*, detto *cheratinizzato* perché le sue cellule subiscono il processo di cheratinizzazione. In seguito a ciò le cellule si trasformano in lamelle cornee desquamanti. Queste lamelle partecipano alla formazione di una barriera che protegge i tessuti sottostanti dall'invasione da parte di patogeni (batteri, funghi), da danni di natura chimica, fisica e meccanica e riducendo l'evaporazione dei liquidi tissutali. Le cellule basali, che hanno caratteri di cellule staminali, si moltiplicano per mitosi dando origine a nuove cellule che si differenziano, modificandosi nella loro struttura e nella loro funzione, a mano a mano che si spostano verso la superficie. Qui, le lamelle cornee, prive di vita, desquamano continuamente e vengono rimpiazzate dalle cellule degli strati più profondi.

Il meccanismo che porta una cellula basale a progredire nei vari strati dell'epidermide e a trasformarsi in una lamella cornea prende il nome di *citomorfosi cornea*. Si ritiene che il periodo di tempo necessario perché una cellula si porti dallo strato basale a quello corneo, duri in media 30 giorni (Rosati P et al., 2006).

Nell'epidermide si distinguono, dalla profondità alla superficie, cinque strati:

- ◆ **Strato basale o germinativo:** è lo strato più profondo, su cui poggiano tutti gli altri strati. Le cellule che lo compongono danno origine a tutti i cheratinociti degli strati sovrastanti. Le cellule appaiono alte (cubiche o cilindriche) disposte in un solo ordine e poggiano sulla membrana basale che separa l'epidermide dal derma. Le cellule di questo strato hanno i caratteri di *cellule staminali* e posseggono quindi un'intensa attività proliferativa. Delle due cellule che derivano dalla divisione mitotica di una cellula, una conserva i caratteri di cellula staminale e permane nello strato basale, mentre l'altra viene spinta in alto, nello strato spinoso.
- ◆ **Strato spinoso:** è costituito da uno o due strati di cellule nelle zone ricoperte da peli mentre nelle zone glabre, come i cuscinetti plantari, il piano nasale e le giunzioni muco cutanee, può arrivare a venti strati. Il nome “spinoso” deriva dalla presenza di strutture di giunzione denominate desmosomi. Le cellule dello strato spinoso hanno citoplasma da debolmente basofilo a eosinofilo e forma poliedrica in quanto tendono ad appiattirsi procedendo verso la superficie.
- ◆ **Strato granuloso:** è costituito da uno o due strati di cellule nella pelle rivestita da peli e da quattro a otto strati di cellule nelle zone glabre o a livello degli infundibuli dei follicoli piliferi. Le cellule in questo strato sono piatte e con citoplasma basofilo. Il nome granuloso deriva dalla presenza di *granuli cheratoialini* che in realtà mancano di membrana e quindi sarebbero meglio definibili come aggregati insolubili. Questi granuli sarebbero l'equivalente della proteina strutturale profilaggrina, precursore della filaggrina che viene sintetizzata in questo strato dell'epidermide. La filaggrina è

una proteina che regola il processo di cheratinizzazione in quanto aggrega e allinea i filamenti di cheratina e produce la matrice tra i filamenti di cheratina e i corneociti. Il suo ruolo di dispensatrice di amminoacidi è importante per l'idratazione dello strato corneo.

- ◆ **Strato lucido:** è costituito da un singolo strato di corneociti completamente cheratinizzati e privi di nucleo. Questo strato deve il suo nome alla presenza di goccioline di una sostanza semifluida e rifrangente chiamata *eleidina* ed è presente solo a livello dei cuscinetti plantari e del tartufo.
- ◆ **Strato corneo:** è il più superficiale dell'epidermide ed è costituito da numerosi strati di corneociti (da tre a cinquanta a seconda della localizzazione) anucleati e privi di organuli, sospesi in una matrice lipidica extracellulare. Lo strato più superficiale dello strato corneo è detto strato disgiunto, in quanto esso appare spesso distaccato dal resto dell'epidermide. I corneociti hanno una struttura altamente specializzata detta *envelope* che protegge la pelle da microorganismi e da agenti ambientali dannosi oltre che dalla disidratazione essendo impermeabile.

1.2 Struttura del derma

Il derma deriva dal mesoderma ed è costituito da fibre collagene ed elastiche, dalle cellule che le producono (fibrociti) e da una matrice mucopolisaccaridica che sostiene fibre, annessi, vasi e nervi.

Le fibre collagene, più lasse in superficie e più dense in profondità, forniscono resistenza alla trazione ed evitano le lacerazioni. Le fibre elastiche permettono alla cute di ritornare alla sua posizione originale dopo trazione o movimento, soprattutto in corrispondenza delle articolazioni e delle prominenze essee.

La matrice mucopolisaccaridica costituisce un efficace cuscinetto protettivo e rappresenta un'importante riserva di acqua e di elettroliti.

All'interno della matrice si muovono cellule, quali fibrociti e cellule infiammatorie.

I vasi cutanei sono organizzati in tre plessi: quello superficiale porta nutrimento all'epidermide, quello medio all'istmo follicolare e alle ghiandole sebacee e quello profondo ai bulbi e alle ghiandole apocrine. I nervi seguono per lo più il decorso dei vasi. Numerose strutture percettive, in stretto rapporto con i nervi, veicolano le sensazioni di dolore, prurito, tatto, pressione e movimento. Queste sono i peli tattili (vibrisse), i corpuscoli di Pacini (meccanocettori presenti specialmente nei cuscinetti plantari), le terminazioni libere dell'epidermide (dolore e prurito) o associate a cellule di Merkel (pressione) e altri corpuscoli, la cui distribuzione dipende dalla specie e dalla localizzazione del corpo.

Infine, nel derma sono alloggiati anche i muscoli erettori del pelo, ancorati al follicolo pilifero nel segmento inferiore dell'istmo, i quali, contraendosi, permettono l'orripilazione (Noli C e Toma S,(a) 2011).

1.3 Annessi cutanei

Nella cute sono albergati numerosi annessi cutanei:

- follicoli piliferi;
- unghie;
- ghiandole sebacee;
- ghiandole apocrine

FOLLICOLI E PELI

I follicoli sono invaginazioni nel derma di tessuto epiteliale, che servono alla produzione e al sostegno del fusto pilifero. La parte più superficiale, infundibolo, è in tutto simile all'epidermide di superficie. Nella parte intermedia, istmo, sboccano i dotti delle ghiandole sebacee e apocrine e si ancora il muscolo erettore del pelo. La parte profonda, bulbo o radice, è formata da cellule epiteliali matriciali e melanociti che producono e pigmentano, rispettivamente, il fusto pilifero.

Nella parte prossimale, il fusto neoformato è circondato da due guaine follicolari (interna ed esterna), che lo separano dal derma. La guaina interna cheratinizzata viene perduta nell'istmo follicolare, dove il fusto è rigido ed essa non è più necessaria al suo sostegno. La guaina esterna segue il fusto fino all'ostio follicolare, fondendosi poi con l'epidermide di superficie.

Nei carnivori domestici adulti, da un unico ostio follicolare fuoriescono più fusti piliferi, prodotti da radici differenti. Fra i peli di un gruppo, si riconosce in genere un pelo primario, di diametro più grosso degli altri e generalmente dritto, l'unico a possedere una ghiandola sebacea e una ghiandola apocrina. I peli primari costituiscono il rivestimento del mantello, proteggendolo dalla pioggia, e ne caratterizzano l'aspetto (colore, lunghezza). Gli altri peli del gruppo, detti peli secondari, sono in genere più sottili di diametro, con una vasta gamma di dimensioni, da poco più piccoli del primario a molto più sottili. I peli secondari sono in genere privi di ghiandole sebacee e apocrine e costituiscono il sottopelo isolante e protettivo: essi, infatti, sono spesso ondulati, per catturare meglio un cuscinetto d'aria isolante, e contengono aria nel loro midollo. Un pelo in fase di crescita attiva possiede una radice formata da cheratinociti nucleati e capaci di proliferare (cellule della matrice), che maturando danno luogo al fusto pilifero. Questo è formato da

midollo centrale, contenente vacuoli di glicogeno (nei peli primari) o aria (nei peli secondari), zona corticale, formata da cheratina molto rigida che conferisce resistenza al pelo, e da sottile cuticola di rivestimento esterna.

Ciclo pilifero

I peli crescono nella fase del ciclo detta *anagen*, in cui la radice è tondeggiante, pigmentata e ricca di cellule matriciali in attiva fase di proliferazione. La radice in crescita avvolge a cappuccio la papilla dermica, struttura mesenchimale ricca di vasi, che portano nutrimento alle cellule matriciali del pelo. Quando il pelo ha raggiunto la sua lunghezza e la crescita pilifera si arresta, la radice si stacca dalla papilla, perde la pigmentazione e assume forma lanceolata. In questa fase, detta *telogen*, la radice rimane ancorata all'interno del follicolo, grazie ad una particolare cheratina amorfa, detta trichilemmale. Il pelo può restare quiescente in questa fase anche per parecchi mesi, fino alla ripresa del ciclo vegetativo. In questo caso si forma una nuova radice intorno alla papilla dermica, che produce un nuovo pelo, mentre quello vecchio viene espulso; quest'ultima fase è detta *exogen*. (fig.1)

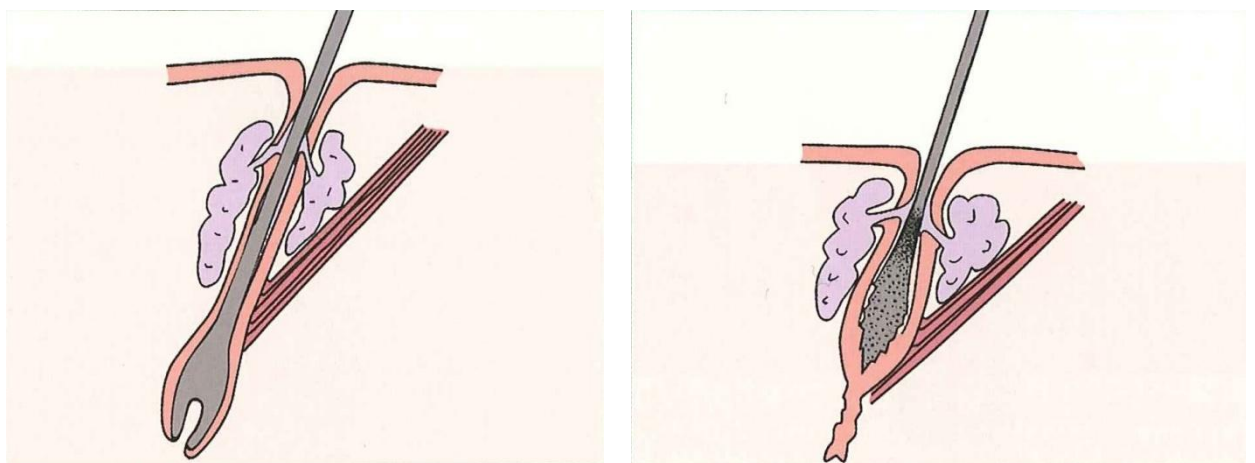


Fig 1 Fase anagen e fase telogen (Noli (a), 2011)

GHIANDOLE

Nella cute hanno sede le ghiandole sebacee e quelle sudoripare apocrine ed eccrine. Le prime due riversano i loro secreti nell'infundibolo pilifero, mentre le ultime sboccano direttamente sulla superficie cutanea nelle aree prive di peli (cuscinetti plantari). Le ghiandole sebacee, a produzione olocrina (le cellule si riempiono di sebo e si dissolvono durante la secrezione), producono materiale grasso, utile per la lubrificazione dei peli e per la costituzione della pellicola protettiva di superficie. Le ghiandole apocrine producono un secreto più acquoso, che contiene alcuni fattori di difesa (fra cui anticorpi) e che, emulsionato al sebo, costituisce la pellicola idrolipidica di superficie. Le ghiandole eccrine, simili a quelle sudoripare dell'uomo, producono un liquido acquoso, che permette di idratare l'epidermide glabra e assicurare più attrito ai cuscinetti sulle superfici scivolose. Ci sono alcune ghiandole, con funzioni particolari, che vengono considerate ghiandole sebacee o sudoripare modificate. Fra le prime si riconoscono le ghiandole circumanali, l'organo supracaudale, le ghiandole del Meibonio nelle palpebre e le ghiandole mentoniere del gatto. Ghiandole sudoripare modificate sono le ghiandole mammarie, quelle ceruminose dell'orecchio e quelle che afferiscono ai sacchi anali (Noli C e Toma S,(a) 2011).

1.4 Funzioni della pelle

La cute è l'organo più esteso del corpo e ne costituisce il rivestimento esterno. Le sue funzioni sono molteplici e tutte molto importanti per l'omeostasi e per la sopravvivenza dell'organismo; possono essere così schematizzate:

- Funzione di barriera. La pelle rappresenta una barriera tra l'organismo e il mondo esterno che impedisce la perdita di acqua,

elettroliti e macromolecole e protegge l'organismo da insulti ambientali di natura chimica, fisica e microbiologica.

- Produzione degli annessi cutanei. La pelle produce peli, unghie e lo strato corneo che offrono ulteriore protezione
- Regolazione della temperatura. Questa funzione viene svolta con l'ausilio dei peli e delle ghiandole sudoripare
- Indicazione dello stato di salute e idratazione. Essendo l'organo più esterno del corpo è il primo indicatore di benessere o malessere dell'individuo
- Deposito. La pelle rappresenta anche una riserva per elettroliti e acqua, catturati nei mucopolisaccaridi del derma, e di vitamine liposolubili e grassi, immagazzinati nel tessuto adiposo ipodermico.
- Azione antimicrobica. La pelle ha proprietà antibatteriche e antifungine
- Attività secretoria. La pelle è un organo secernente attraverso le sue ghiandole apocrine, eccrine e sebacee
- Attività escretoria
- Produzione di vitamina D
- Immunoregolazione

1.5 Microflora cutanea

L'ecosistema cutaneo, cioè il microambiente presente sulla superficie, è determinato da fattori fisici, chimici e biologici in relazione fra loro.

Fra i fattori fisici e chimici, si possono citare: pH, acqua, sali minerali e fattori di difesa specifici e aspecifici presenti nel sebo e nel sudore.

Fra i microrganismi, si riconoscono batteri, lieviti e parassiti. Generalmente l'interazione fra ospite e microflora di superficie

residente è stabile e contribuisce a prevenire la colonizzazione della cute da parte dei microrganismi patogeni.

I batteri isolati dalla superficie cutanea sono per lo più cocchi aerobi e altri microrganismi Gram+ e, fra questi, predominano gli stafilococchi. Le specie resistenti sono commensali, che compiono tutto il loro ciclo vitale sulla cute, ne traggono nutrimento e la difendono da colonizzazioni di batteri patogeni, grazie alla produzione di metaboliti tossici, enzimi, batteriocine e antibiotici. È quindi difficile per i batteri opportunisti (quali *Staphylococcus pseudointermedius*) o patogeni prendere piede e causare infezioni. Nel cane, sono considerati batteri residenti i cocchi *Micrococcus* spp, stafilococchi coagulasi-negativi, quali *S. epidermidis* e *S. xylosus* (e molti altri), e streptococchi α -emolitici, *Acinetobacter* spp, *Propionibacterium* spp e *Clostridium* spp; nei gatti, *Micrococcus* spp, stafilococchi coagulasi-negativi (fra cui predomina *S. simulans*), streptococchi α -emolitici e *Acinetobacter* spp. I batteri residenti sono generalmente innocui; tuttavia, possono occasionalmente comportarsi da germi patogeni. I batteri transitori si possono isolare occasionalmente dalla cute, ma non ci vivono e non compiono il loro ciclo vitale in questa sede. Fra questi, si ricordano, nel cane, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium* spp, *Bacillus* spp, *Pseudomonas* spp, *Alcaligenes* spp e stafilococchi. Anche questi batteri possono diventare occasionalmente patogeni, se le condizioni ambientali sono favorevoli come, per esempio, in aree calde e umide in cui sia stata soppressa la flora esistente.

Staphylococcus pseudointermedius (una volta chiamato *S. intermedius*), responsabile della maggior parte delle piodermiti del cane, è probabilmente residente delle mucose, ma non della cute. Esso è stato frequentemente isolato anche dai fusti piliferi e dalle unità pilosebacee di cani sani, tanto che si pensa che peli e mucose

siano le riserve maggiori di questi microrganismi negli animali con piodermite. È possibile che la popolazione di batteri localizzata ai peli derivi da quella mucosale, a causa dell'azione di leccamento durante la toelettatura.

Malassezia pachydermatis è un lievito commensale isolato da orecchie, mento, labbro inferiore, spazi interdigitali, ano e sacchi anali di cani e gatti sani. La presenza di questi lieviti forse contribuisce a limitare le infezioni da funghi e lieviti più virulenti. Dal pelo e dalla cute degli animali domestici si possono isolare funghi saprofiti, raccolti dall'ambiente e trasportati passivamente dal corpo, quali quelli appartenenti a specie di *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Se inoculati attraverso soluzioni di continuo in soggetti immunodepressi, essi possono causare infezioni micotiche profonde.

Alcuni dermatofiti geofilici, quali *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* e *T. terrestre*, se isolati da animali sani, rappresentano probabilmente una flora transitoria, mentre il ritrovamento del dermatofita *Microsporum canis* è da considerarsi sempre patologico.

Il parassita *Demox canis* è considerato commensale dei follicoli piliferi e delle ghiandole sebacee degli animali sani; tuttavia, il suo ritrovamento è considerato eccezionale.

L'acquisizione degli acari *Demodex* avviene nei primissimi giorni di vita per contatto diretto dalla madre durante l'allattamento. In animali predisposti e immunodepressi, essi possono moltiplicarsi in eccesso e causare la malattia clinica (demodicosi) (Noli C e Toma S,(a) 2011).

1.6 Caratteristiche generali delle risposte immunitarie

Il termine “*immunità*” deriva dal latino “*immunitas*”, che si riferisce alla protezione dalla perseguibilità legale di cui godevano i senatori romani in carica.

Storicamente, immunità significa la protezione dalla malattia e, più specificamente, dalla malattia infettiva.

Le cellule e le molecole responsabili dell'immunità costituiscono il sistema immunitario e la loro risposta coordinata all'introduzione di sostanze estranee è chiamata risposta immunitaria.

La funzione fisiologica del sistema immunitario è la difesa da agenti infettivi. Tuttavia, anche sostanze estranee di natura non infettiva possono suscitare una risposta immunitaria. Inoltre, i meccanismi che normalmente proteggono i soggetti dall'infezione ed eliminano le sostanze estranee, possono, in alcune circostanze, causare danno tissutale e malattia.

La difesa contro i microbi è mediata da reazioni precoci dell'immunità innata e da altre più tardive dell'immunità adattativa. L'immunità innata (detta anche naturale o nativa) consiste in meccanismi di difesa cellulare e biochimici preesistenti all'infezione e pronti a reagire con rapidità. Questi meccanismi reagiscono solo a microbi e non a sostanze non infettive e reagiscono in modo identico a infezioni ripetute.

I principali componenti dell'immunità innata sono: le barriere fisiche e chimiche (come gli epiteli e le sostanze antimicrobiche prodotte dalle superfici epiteliali), le cellule fagocitiche (neutrofili e macrofagi) e NK (cellule natural killer), le proteine del sangue (tra cui i fattori del sistema del complemento e altri mediatori della flogosi), numerose proteine chiamate citochine che regolano e coordinano molte delle attività delle cellule dell'immunità innata.

A fianco dell'immunità innata esistono altre risposte immunitarie che aumentano in ampiezza e capacità difensive ad ogni successiva esposizione a un particolare agente infettivo. Poiché questa forma di immunità si sviluppa in risposta ad un'infezione e si adatta all'infezione stessa, essa viene definita immunità adattativa. Le caratteristiche che la definiscono sono una spiccata specificità per molecole diverse e la capacità di “ricordare” e di rispondere sempre più vigorosamente a esposizioni ripetute a uno stesso microbo. Il sistema immunitario adattativo è in grado di riconoscere e reagire in risposta a un gran numero di sostanze microbiche e non. Per la sua straordinaria capacità di distinguere anche tra microbi e molecole strettamente correlate, l'immunità adattativa viene anche detta immunità specifica.

Viene anche identificata con il nome di immunità acquisita, a sottolineare che l'esperienza permette di “acquisire” potenti risposte protettive. I componenti dell'immunità adattativa sono i **linfociti** e i loro prodotti. Le sostanze estranee che inducono una risposta immunitaria specifica o che di tali risposte sono bersaglio vengono dette **antigeni**.

Le risposte immunitarie innate ed adattative sono parte di un sistema integrato di meccanismi di difesa a cui cooperano numerose cellule e molecole. I meccanismi dell'immunità innata forniscono una difesa efficace contro le infezioni. Tuttavia, molti agenti patogeni si sono evoluti per resistere all'immunità innata e la loro eliminazione richiede l'intervento dei potenti meccanismi dell'immunità adattativa. Vi sono due importanti collegamenti tra immunità innata ed immunità adattativa. Primo, l'immunità innata ai microbi stimola e condiziona la natura della risposta immunitaria adattativa. Secondo, le risposte immunitarie adattative usano per eliminare i microbi molti dei meccanismi effettori dell'immunità

innata e a tal fine agiscono aumentando l'attività antimicrobica dell'immunità innata.

Esistono due tipi di risposte immunitarie adattative, denominate immunità umorale e immunità cellulare; esse sono mediate da componenti diverse del sistema immunitario e hanno il compito di eliminare tipi diversi di microbi.

L'immunità umorale è mediata da molecole presenti nel sangue e nelle secrezioni mucosali, chiamate **anticorpi**, che sono prodotte da cellule denominate **linfociti B**. Gli anticorpi riconoscono gli antigeni microbici neutralizzandone l'infettività e identificandoli per la successiva eliminazione da parte dei vari meccanismi effettori. L'immunità umorale è il principale meccanismo di difesa contro i microbi extracellulari e le loro tossine poiché gli anticorpi secreti possono legarsi sia ai microbi sia alle tossine agevolando la loro eliminazione. Gli anticorpi possiedono diversi gradi di specializzazione e, a seconda del tipo, possono attivare diversi meccanismi effettori. Per esempio, alcuni tipi di anticorpi promuovono la fagocitosi, altri scatenano il rilascio di mediatori della flogosi da parte di alcuni leucociti come i mastociti. L'immunità cellulare, detta anche immunità cellulo-mediata, è mediata dai linfociti T. I microbi intracellulari, come i virus e alcuni batteri, sopravvivono e proliferano all'interno dei fagociti e di altri tipi cellulari, e divengono inaccessibili agli anticorpi circolanti. La difesa contro tali infezioni dipende dall'immunità cellulare, che elimina i serbatoi d'infezione attraverso la distruzione dei microbi residenti nei fagociti o nelle cellule infette (Abbas AK e Lichtman AH(a), 2006).

1.7 Il sistema immunitario associato alle pelle

La cute ha un importante funzione immunoregolatrice (fig.3) che comprende due componenti: la componente cellulare e la componente umorale.

La componente cellulare comprende:

- Cheratinociti
- Cellule di Langherans
- Linfociti
- Macrofagi tissutali
- Cellule endoteliali
- Neutrofili
- Eosinofili

1.7.1 I Cheratinociti

I cheratinociti oltre a produrre cheratina, lipidi e sostanze intracellulari, sono i maggiori produttori di citochine dell'epidermide; la più importante è l'IL-1 che viene immagazzinata e poi rilasciata in seguito a un danno cellulare. Il rilascio di IL-1 è uno dei primi eventi che si verificano nelle patologie cutanee. Oltre all'IL-1 i cheratinociti producono IL-3, IL-6, IL-, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-16, IL-18 TNF- α e una varietà di growth factors e granulocyte macrophage stimulating and activating factors.

A seconda delle citochine prodotte i cheratinociti possono condizionare la risposta immunitaria, se viene prodotta l'IL-10 la risposta sarà prevalentemente di tipo Th2 se viene prodotta l'IL-12 sarà prevalentemente di tipo Th1.

1.7.2 Le Cellule di Langherans

Le cellule di Langherans, situate nella porzione soprabasale dell'epidermide, costituiscono le cellule dendritiche immature del sistema immunitario cutaneo (Abbas AK e Lichtman AH(b), 2006), altamente specializzate nella presentazione dell'antigene (Jacob T e Udey MC, 1999). Con i loro prolungamenti dendritici, formano una rete che consente loro di catturare gli antigeni che penetrano attraverso la cute.

In seguito alla stimolazione da parte di citochine proinfiammatorie, le cellule di Langherans ritraggono i loro prolungamenti, perdono l'adesività con le cellule dell'epidermide e migrano nel derma per poi dirigersi nei linfonodi drenanti attraverso i vasi linfatici; nel corso della loro migrazione verso i linfonodi, le cellule dendritiche maturano per diventare estremamente efficienti nella presentazione degli antigeni e nella stimolazione dei linfociti T naive, cellule che non sono state ancora stimulate dall'antigene e, sulla base della loro morfologia, vengono denominati piccoli linfociti (Abbas AK e Lichtman AH(b), 2006). Le cellule di Langherans inoltre esprimono alti livelli di E-caderina, una glicoproteina che media l'adesione selettiva ai cheratinociti in presenza di Ca (Jacob T e Udey MC, 1999).

Questa funzione è fondamentale per la localizzazione dei linfociti nel sito d'infiammazione.

1.7.3 I Linfociti

I linfociti derivano da un ceppo midollare del midollo osseo e possono essere suddivisi in:

1. T o timo dipendenti
2. B o bone marrow derived
3. NK o natural kiler

I linfociti T sono i mediatori dell'immunità cellulare e prendono il loro nome dal fatto che i loro precursori, di origine midollare, migrano e maturano nel timo. I linfociti T sono suddivisi in due sottogruppi, linfociti T helper e linfociti T citotossici (Abbas AK e Lichtman AH(b), 2006).

- I linfociti T helper possiedono il recettore di membrana CD4 che è il recettore del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 2 (Moore PF et al., 1992).

I T helper sono specializzati nella risposta ad antigeni esogeni che vengono loro presentati dalle cellule di Langherans dopo la processazione. Il nome helper deriva dal fatto che stimolano i linfociti B a produrre immunoglobuline e coordinano l'attività di altre cellule infiammatorie. Nel ratto è stato visto che in seguito a stimolazione antigenica le cellule T-helper si dividono in due ulteriori categorie a seconda delle citochine che producono (Mosman TR et al., 1986).

I Th1 producono IL-2 e INF- γ e favoriscono le reazioni di ipersensibilità ritardata, l'attivazione dei macrofagi, la produzione di opsonine e di anticorpi fissanti il complemento (soprattutto IgG e IgM).

I Th2 producono IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13; favoriscono lo sviluppo di mastociti ed eosinofili; sottoregolano la produzione delle IgG1 e stimolano la sintesi delle IgE e delle IgA. La risposta di tipo Th2 prevale nelle infestazioni parassitarie e nelle reazioni di ipersensibilità immediata.

- I linfociti T citotossici possiedono il recettore di membrana CD8 che è il recettore del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 1. Queste cellule sono specializzate nella risposta ad antigeni endogeni, ovvero sintetizzati all'interno delle cellule dell'organismo ed inducono effetti citotossici.

I linfociti B, sono piccoli linfociti che hanno origine e vengono a maturazione nel midollo osseo e sono caratterizzati dal possedere specifiche immunoglobuline di superficie che svolgono la funzione di recettore per l'antigene.

Oltre a queste molecole i linfociti B esprimono sulla loro superficie le molecole MHC di classe 2 che permettono a queste cellule di comportarsi come cellule presentanti l'antigene, recettori per il frammento Fc delle immunoglobuline e il recettore per il frammento C3b del complemento.

La principale funzione delle cellule B è la sintesi di immunoglobuline specifiche contro determinati antigeni. Le immunoglobuline presenti di superficie dei linfociti B “vergini” sono di tipo IgM ed IgD ed hanno scarsa affinità per l'antigene. L'appropriata interazione tra l'antigene e la cellula B determina, con l'aiuto delle cellule T della memoria che producono IL-1, IL-2, IL-4, IL-5 e IL-10 l'espansione clonale di cellule in grado di produrre IgE, IgA, IgG ad elevata affinità per l'antigene che allo stadio terminale di differenziamento vengono dette plasmacellule.

Gli Nk o natural killer, sono grandi linfociti granulari che non esprimono recettori specifici per gli antigeni ed hanno il compito di identificare e distruggere cellule estranee all'organismo che non esprimono il complesso maggiore di istocompatibilità di classe 1 che viene specificamente riconosciuto dai loro recettori di membrana. Per esempio molte cellule tumorali o infettate da virus non esprimono l'MHC di classe 1 e quindi vengono riconosciute e uccise dai linfociti Nk.

Le cellule Nk inoltre hanno recettori per la regione Fc delle immunoglobuline e quindi possono uccidere le cellule legate ad essi con un processo detto ADCC “*antibody dependent cell-mediated cytotoxicity*” (Modlin RL, 1999).

1.7.4 I Macrofagi tissutali

I macrofagi sono cellule all'ultimo stadio di maturazione facenti parte della linea monocita-macrofagica, e nel derma sono considerati i precursori dei dendrociti dermici (Nickoloff BJ, 1993). Derivano dal midollo osseo e passano nel circolo ematico, dove sono caratterizzati da recettori CD14.

I macrofagi risiedono nel tessuto connettivo subepiteliale, nell'interstizio degli organi, nel rivestimento dei sinusoidi epatici e splenici e nei seni linfatici dei linfonodi. Esse, quindi, sono distribuite, strategicamente, in tutte le sedi in cui i microrganismi possono penetrare nell'ospite (Abbas AK e Lichtman AH(d), 2006). Sono considerate cellule multifunzionali poichè agiscono sia nella prima fase della risposta immunitaria, come cellule presentanti e processanti l'antigene per la successiva attivazione dei linfociti T, che nelle fasi successive in quanto intervengono dopo il richiamo delle citochine prodotte dai linfociti per la distruzione delle cellule parassitate.

Inoltre la loro attività è fondamentale nella guarigione delle ferite, nella difesa dai patogeni e per la produzione di numerosi enzimi, citochine e mediatori di flogosi che in alcuni casi promuovono e in altri inibiscono il processo infiammatorio.

I macrofagi sono uno dei maggiori componenti dell'infiltrato cellulare nelle lesioni croniche della dermatite atopica (Leung DYM, 1995).

1.7.5 Le Cellule endoteliali

Le cellule dell'endotelio vasale svolgono un'importante funzione nella risposta immunitaria in quanto esprimono sulla loro superficie diverse molecole di adesione in risposta a diverse citochine. Fra queste molecole di adesione ricordiamo le selectine e le molecole della superfamiglia delle immunoglobuline.

Le selectine sono responsabili dell'adesione iniziale dei leucociti all'endotelio infiammatorio. (Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. Immunologia Cap 15 Migrazione leucocitaria e infiammazione pg 378).

Le molecole della superfamiglia delle immunoglobuline sono denominate ICAM-1, ICAM-2, VCAM; esse hanno il compito di legarsi alle integrine, proteine eterodimeriche espresse dai linfociti e questo legame determina l'adesione leucocitaria all'endotelio e lo stravasamento nel sito infiammatorio. (Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. Immunologia Cap 15 Migrazione leucocitaria e infiammazione pg 379).

1.7.6 I Mastociti

Tutti i mastociti derivano da progenitori midollari. In condizioni normali, nel circolo non sono riscontrabili mastociti maturi. I progenitori migrano nei tessuti periferici come cellule immature e subiscono la differenziazione in situ. Mastociti maturi sono presenti in tutti i distretti dell'organismo, soprattutto in vicinanza dei vasi sanguigni e dei nervi e in posizione sub epiteliale. Sono anche presenti negli organi linfoidei (Abbas AK e Lichtman AH(e), 2006). La differenziazione e la proliferazione dei mastociti è regolata da numerosi fattori. Il principale è un fattore prodotto da cellule staminali derivate da fibroblasti che è anche responsabile della chemiotassi. Nel cane i mastociti posseggono un recettore specifico per questa molecola, denominato c-kit (London CA et al., 1999). Inoltre la proliferazione e la differenziazione mastocitaria è determinata dai linfociti attraverso la produzione di IL-3, IL-4, IL-9 e IL-10 (Galli SJ et al, 1993).

La funzione dei mastociti è quella di sintetizzare e rilasciare un grande numero di mediatori di flogosi i quali vengono stoccati a livello dei granuli o immediatamente liberati. Questi importanti

fattori sono istamina (De Mora F et al., 1993), triptasi (Schechter NM et al., 1988), chimasi, leucotrieni (Marsella R e Nicklin CF, 2001) e TNF- α (Hill PB e Martin Rj, 1998).

In genere la degranulazione dei mastociti avviene in seguito al legame allergene indotto delle IgE con recettori specifici presenti sulla superficie cellulare (Fc ϵ RI), ma può essere indotto anche da frazioni del complemento dette anafilotossine (C3a, C4a, C5a) e da alcuni farmaci (oppioidi, ACTH sintetico, ionofori del calcio).

La degranulazione quindi avviene quando un allergene induce il cross-legame delle IgE legate ai recettori presenti sulla superficie dei mastociti e studi sperimentali hanno dimostrato che solo gli immunocomplessi con un rapporto IgE- allergene di 2:1 possono indurla (Razin E et al., 1995).

Una volta rilasciati nello spazio intercellulare, il contenuto dei granuli in associazione con l'endotelio vasale e le altre cellule infiammatorie determina le reazioni tipiche dell'infiammazione (rubor, dolor, calor, tumor).

Nella pelle i mastociti si trovano prevalentemente a livello del derma intorno ai capillari, Emerson e Cross hanno riportato che il numero maggiore è localizzato a livello delle orecchie (16,9 cellule per campo), seguito da vulva, prepuzio e scroto (circa 9), ano (8,3), perineo (8,1), testa (7,8), palpebra superiore (7,6), area dorsale del collo (6,8), palpebra inferiore e torace laterale (6,5), area ventrale del collo (6,3), area ventrale dell'addome (5,5), labbra (5,4), dorso (5,1), area mediale delle cosce (5,0), pianta dei piedi (3,1) e piano nasale (2,4) (Emerson JL e Cross RF, 1965).

1.7.7 I Neutrofili

I neutrofili, detti anche leucociti polimorfonucleati, costituiscono la popolazione cellulare più abbondante nell'ambito dei globuli bianchi circolanti e mediano le prime fasi della risposta infiammatoria. Sono prodotti nel midollo osseo durante l'emopoiesi e si differenziano attraverso uno stipite maturativo comune ai fagociti mononucleati. La produzione dei neutrofili è stimolata da una citochina chiamata GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor). (Abbas AK e Lichtman AH(d), 2006). Sono cellule di forma rotonda, del diametro di 12-15 micron; hanno un caratteristico nucleo segmentato in più (da 3 a 5) lobulazioni, che sono direttamente proporzionali all'età della cellula e sono uniti da sottili istmi cromatinici. Nei soggetti di sesso femminile è talora osservabile una porzione del nucleo “claviforme”, che rappresenta la cromatina del corpo di Barr.

Quando essudano in siti di chemiotassi, la morfologia del nucleo cambia, diventando più globosa e scolorita a causa dell'incorporazione di liquidi, determinando l'aspetto di “neutrofilo degenerato”.

Il citoplasma si presenta chiaro, moderatamente rugoso, ricchi in granuli distinti in azzurrofilo e specifici (Ressel L, 2010). I granuli specifici, in maggioranza, contengono enzimi quali lisozima, collagenasi ed elastasi.

I granuli azzurrofilo sono lisosomi contenenti enzimi e altre sostanze microbicide (Abbas AK e Lichtman AH(d), 2006). La principale funzione dei neutrofili è quella di catturare e distruggere materiale estraneo, in particolar modo batteri. Il loro intervento è fondamentale nelle piodermiti e nella demodicosi generalizzate ma anche nelle allergie.

Studi preliminari indicano che i neutrofili sono presenti nell'80% dei campioni cutanei prelevati da soggetti con dermatite atopica e che

nel 35% di questi campioni sarebbero il tipo cellulare dominante (Scott DW, 1981), mentre studi più recenti suggeriscono che i neutrofili sono scarsamente presenti e rappresentano solo il 3% dell'infiltrato infiammatorio nella dermatite atopica (Olivry T et al., 1997).

1.7.8 Gli Eosinofili

Gli eosinofili sono granulociti di derivazione midollare che sono abbondantemente presenti negli infiltrati infiammatori delle reazioni di fase tardiva e che partecipano a molti processi patologici nelle malattie allergiche.

Gli eosinofili si sviluppano nel midollo osseo, dopo maturazione, circolano nel sangue (Abbas AK e Lichtman AH(e), 2006). Il loro sviluppo è stimolato da IL-3, IL-5 e GM-CSF (Kaplan AP e Kuna P, 1998) che promuovono la maturazione degli eosinofili da precursori mieloidi (Abbas AK e Lichtman AH(e), 2006).

Sono cellule rotonde, di diametro di 10-15 micron, con un nucleo solitamente segmentato in due lobi. I granuli citoplasmatici sono di dimensioni variabili, hanno colore aranciato tipico e non stipano il citoplasma (Ressel L, 2010).

Gli eosinofili vengono attratti nel sito di infiammazione da specifici fattori chemiotattici, quali istamina, la componente C5a del complemento, il leucotriene B₄, estratti parassitari, eotassina 1 e 2 e RANTES (*regulated upon activation of normal T-cellexpressed and secrete*) (De Mora F et al., 1993).

Una volta richiamati in loco esprimono sia un'attività fagocitica sia un'attività secretoria.

Sono in grado di fagocitare batteri (in maniera minore rispetto ai neutrofili), funghi, immunocomplessi, granuli di mastociti e aggregati di immunoglobuline (McEwen BJ, 1992).

L'attività secretoria, come suggerito dall'abbondanza di granuli citoplasmatici è la più importante e può essere o meno dipendente dalle IgE, come per i mastociti e i basofili ma al contrario di questi ultimi de granulano lentamente (Plager DA et al., 1998). I granuli degli eosinofili contengono importanti proteine tra le quali la proteina basica maggiore , la proteina cationica eosinofila e varie perossidasi ed enzimi lisosomiali che sono importanti per gli effetti elmintotossici, citotossici, battericidi e sono in grado di determinare la degranulazione dei mastociti (Schechter NM et al., 1988). Ad oggi ci sono scarse evidenze circa il ruolo degli eosinofili nelle allergie cutanee nel cane, in questa specie infatti, al contrario di ciò che avviene nel cavallo e nel gatto, le flogosi eosinofiliche sono poco comuni.

Nella cute sana del cane gli eosinofili si ritrovano raramente ma aumentano notevolmente a 10 per campo in caso di dermatite atopica (Nimmo Wilkie JS et al., 1990), avvicinandosi ad una cellula per HPF o al 4% dell'infiltrato infiammatorio (Olivry T et al., 1999). Al contrario un altro studio afferma che gli eosinofili sarebbero presenti solo occasionalmente nei campioni istologici di soggetti con dermatite atopica mentre sarebbero presenti in numero significativamente maggiore nei campioni cutanei prelevati da soggetti con reazioni avverse agli alimenti (Skuba EV et al., 2001).

La componente umorale comprende:

- il complemento
- le citochine
- gli eicosanoidi
- i neuropeptidi
- i peptidi antimicrobici

1.7.9 Il Complemento

Il complemento è un importante mediatore della risposta umorale aspecifica; è un sistema di proteine plasmatiche solubili e della membrana cellulare che interagiscono l'una con l'altra e con altre molecole del sistema immunitario inducendo ed influenzando eventi immunologici e infiammatori.

Le varie componenti proteiche vengono identificate con la lettera C seguita da un numero C1, C2, C3, C4...etc.

La sua attivazione avviene mediante scissione del frammento C3 che può avvenire secondo tre vie che differiscono per le modalità di avvio.

La via classica è attivata da complessi solubili antigene-anticorpo o dal legame di un anticorpo ad un opportuno bersaglio, la via alternativa da superfici microbiche (virus, batteri) e la via lectinica da lectine plasmatiche che si legano ai microrganismi. Ciascuna via consiste in una cascata di enzimi proteolitici che genera mediatori proinfiammatori e opsonine e che porta alla formazione di un complesso litico che si inserisce nella membrana delle cellule bersaglio (Abbas AK e Lichtman AH(f), 2006).

1.7.10 Le Citochine

Le citochine sono proteine polipeptidiche prodotte dalle cellule dell'immunità sia innata che specifica e, una volta secrete, sono in grado di regolare molte delle funzioni svolte dalle stesse cellule che le hanno prodotte (Abbas AK e Lichtman AH(c), 2006).

Possono avere azione autocrina, paracrina o endocrina e hanno una vita media di pochi minuti. In relazione alla funzione principale svolta possono essere distinte in:

- ✓ mediatori dell'immunità: Interferoni (INF- α 1- α 2 - β), Tumor necrosis factor (- α - β);
- ✓ mediatori della risposta infiammatoria: INF- γ , IL-8, *monocyte chemotactic protein* (MCP-1), citochine che regolano attivazione, crescita e differenziazione dei leucociti (IL-4, IL-5, IL-7, IL-12 e *transforming growth factor* o TGF β);
- ✓ fattori di crescita dell'emopoiesi: IL-3, Granulocytes Macrophages colony stimulating factor (GM-CSF), Granulocytes colony stimulating factor (G-CSF), Macrophage colony stimulating factor (M-CSF).

Nella patogenesi della dermatite atopica gioca un ruolo fondamentale uno sbilanciamento della risposta T-cell mediata con una prevalenza della risposta Th2, questo è dovuto alla produzione di IL-4 e IL-5 (Hanifin JM e Chan S, 1999).

L'IL-4 rappresenta il principale stimolo per la produzione di anticorpi IgE e per lo sviluppo di cellule Th2 da linfociti T helper CD4 naïve. È una citochina principalmente coinvolta nello sviluppo della sottopopolazione linfocitaria Th2 e può agire sia come induttore sia come effettore di queste cellule (Abbas AK e Lichtman AH(c), 2006).

L'IL-5 è una molecola chiave nella chemiotassi, attivazione e sopravvivenza degli eosinofili e rappresenta un anello di coniugazione tra l'attivazione dei linfociti T e le risposte infiammatorie mediate dagli eosinofili (Abbas AK e Lichtman AH(c), 2006).

Altre citochine importanti nello sviluppo della dermatite atopica sono: IL-3, anche denominata “fattore stimolante le colonie multilineare”(multi-CSF) (Abbas AK e Lichtman AH(c), 2006) e il GM-CSF prodotte dai linfociti che attivano gli eosinofili e facilitano l'infiltrazione tissutale; l'IL-6 che viene secreta dopo l'esposizione all'antigene sia in vivo che in vitro, nell'uomo è importante nello sviluppo della reazione infiammatoria e nel determinismo del grado

delle lesioni da dermatite atopica (Lee CE et al., 1992) e il TNF- α il cui aumento si verifica due ore dopo l'esposizione antigenica nei soggetti atopici (Sumimoto S et al., 1992) e la cui funzione è quella di attivare i neutrofili, favorire la chemiotassi dei monociti e accrescere la produzione di altre citochine da parte delle cellule T.

1.7.11 Gli Eicosanoidi

Derivano dall'ossidazione dell'acido arachidonico e sono potenti mediatori biologici, possono dividersi in due categorie, i prostanoidi (prostaglandine, trombossani) e i leucotrieni.

I prostanodi derivano dal metabolismo dell'acido arachidonico mediante l'enzima ciclossigenasi, di cui esistono due forme, che vengono denominate COX-1 e COX-2.

L'enzima COX-1 viene normalmente espresso in numerosi tessuti dell'organismo e sintetizza classi di prostaglandine che svolgono un ruolo importante nel mantenimento dell'omeostasi a livello della mucosa gastrica, del flusso renale, nell'emostasi, nella guarigione delle ferite e nell'ovulazione. Al contrario, l'espressione dell'enzima COX-2 si osserva solamente in corrispondenza di alcuni distretti come i neuroni cerebrali, i reni, il tessuto osseo e il sistema riproduttivo femminile. Negli altri tessuti tuttavia, la sintesi dell'enzima COX-2 può essere indotta dalle citochine e dai fattori di crescita liberati durante il processo infiammatorio.

La ciclossigenasi induce primariamente la formazione di PGH₁ che viene secondariamente metabolizzata in PGE₂, PGF₂ e PFD₂ e trombossano A₂.

La PGE₂ determina essudazione plasmatica e iperalgesia, stimola la proliferazione cellulare e inibisce la funzionalità di linfociti e neutrofili, il PGF₂ determina vasocostrizione, agisce in sinergia con istamina e bradichinina nella permeabilità vascolare e stimola la proliferazione cellulare.

La PGD2 rilassa la muscolatura liscia.

Il trombossano A2 si trova soprattutto nelle piastrine e determina vasocostrizione, bronco costrizione e aggregazione piastrinica.

I leucotrieni vengono prodotti sempre a partire dall'acido arachidonico attraverso un'altra classe di enzimi le lipossigenasi 5, 12 e 15.

La lipossigenasi 5 prevale in neutrofili, monociti, macrofagi e mastociti; porta alla formazione di LTA₄ che a seconda degli enzimi presenti nelle cellule viene convertito in LTB₄, LTC₄, LTD₄ o LTE₄. La lipossigenasi 15 prevale nelle cellule endoteliali, epiteliali e negli eosinofili e la 12 nelle piastrine. I leucotrieni C₄, D₄ ed E₄ determinano dilatazione e aumento della permeabilità vascolare, mentre il B₄ determina aumento dell'adesione dei leucociti all'endotelio vasale e la loro attivazione e chemiotassi, proliferazione dei cheratinociti, aumentata attività delle cellule NK e iperalgesia.

I leucotrieni hanno un ruolo di primaria importanza nell'infiammazione e nelle reazioni allergiche (Koro O et al., 1999).

In molte malattie dermatologiche è riportato un aumento dell' LTB₄ cutaneo (dermatite atopica, dermatite allergica al morso di pulce, piodermite e seborrea). In particolare nei soggetti atopici è stato documentato un aumento dei leucotrieni in seguito ad inoculazione intradermica di specifici allergeni (Small P et al., 1994), soprattutto dell' LTB₄ e dell' LTC₄ da parte dei leucociti (Ruzicka T e Ring J, 1987).

I livelli cutanei di LTB₄ sono aumentati nei campioni prelevati da cute lesionata di pazienti con dermatite atopica rispetto ai campioni prelevati da cute sana degli stessi soggetti o da soggetti sani (Ruzicka T, 1989). Inoltre nei soggetti atopici il rilascio di LTB₄ dopo esposizione all'antigene è significativamente più alto rispetto ai controlli (Koro O et al., 1999).

Nella cute eritematosa, ipertrofica e iperpigmentata sono presenti alti livelli di LTB₄, questo dato confermerebbe l'ipotesi suggerita da precedenti studi in vitro secondo i quali i leucotrieni potrebbero avere effetti mitogeni nelle cellule dell'epidermide e nei melanociti (Tomita Y, 1992).

1.7.12 I Neuropeptidi

Nelle cellule nervose, a livello del reticolo endoplasmatico, vengono sintetizzati i precursori dei neuropeptidi, i quali vengono processati, impacchettati a livello dell'apparato di Golgi e rilasciati a livello delle terminazioni nervose.

I neuropeptidi più comunemente presenti a livello cutaneo sono: sostanza P (SP);

neurokinina A (NA);

peptide correlato al gene della calcitonina (CGRP);

neurotensina

polipeptide pituitario attivante l'adenilato ciclasi (PACAB);

peptide intestinale vasoattivo;

neuropeptide Y (NY);

β-endorfina;

encefalina;

somatostatina;

galanina;

dinorfina;

peptide natriuretico atriale;

α o γ melanocyte stimulating hormone;

urocortina; corticotrophin releasing hormone. (Steinhoff M et al., 2003).

Nonostante queste sostanze siano per lo più sintetizzate dalle cellule nervose, esistono delle valutazioni scientifiche che dimostrano la capacità da parte delle cellule epidermiche e dermiche di

sintetizzarle, in particolar modo fibroblasti, melanociti, cheratinociti, cellule di Langherans, cellule di Merkel, mastociti e cellule endoteliali (Steinhoff M et al., 2003).

Biopsie cutanee, condotte sull'umana specie con dermatite atopica, hanno dimostrato un aumento delle fibre nervose e dei neuropeptidi e un aumento del diametro delle fibre nervose accompagnato da un mancato rivestimento fornito dalle cellule di Schwann a causa di uno stato di perenne eccitazione. Altri studi hanno dimostrato anche l'aumento di fibre contenenti SP e CGRP (Ostlere LS et al., 1995). La SP è un potente vasodilatatore e partecipa alla risposta infiammatoria inducendo prurito e la degranulazione mastocitaria (Rossi R e Jhoansson O, 1998); altri neuropeptidi, tra cui la somatostatina e il peptide intestinale vasoattivo, inducono il rilascio di istamina da parte dei mastociti e possono mediare un'attivazione di tipo neuroendocrino (Abbas AK e Lichtman AH(e), 2006); anche il CGRP è un vasodilatatore e stimola la proliferazione dei cheratinociti con successivo rilascio di citochine (Steinhoff M et al., 2003). Secondo uno studio effettuato da Fantini et al. in corso di dermatite atopica, nelle lesioni croniche, i livelli di SP sarebbero diminuiti e ci sarebbe invece un aumento del VIP (Fantini F et al., 1995). Il VIP a livello cutaneo si trova nel derma in prossimità delle ghiandole sudoripare eccrine e dei follicoli piliferi; anch'esso è un potente vasodilatatore e contribuisce allo sviluppo di prurito, eritema ed edema.

1.7.13 I Peptidi antimicrobici

I peptidi antimicrobici sono una famiglia di piccoli peptidi aventi attività antibatterica, antivirale e antifungina. Sono prodotti primariamente dai leucociti e dai cheratinociti.

Le maggiori famiglie comprendono le defensine (β -defensine 1 e 2) e le catelecidine (LL-37) indotte nei cheratinociti da tipici stimoli infiammatori come prodotti batterici, IL-1 e TNF- α (Bardan et al., 2004).

Oltre a svolgere attività antimicrobica questi peptidi sono chemiotattici per cellule dendritiche, monociti, neutrofili e linfociti T; attivano le cellule dendritiche; svolgono attività angiogenetica e stimolano la sintesi della matrice extracellulare.

Nella dermatite atopica sono comuni le infezioni secondarie da *Stafilococchi*, questo sembra essere dovuto ad un difetto di barriera cutanea e anche ai ripetuti trattamenti con glucocorticoidi.

In medicina umana però si è osservato come altre patologie dermatologiche caratterizzate da un difetto di barriera cutanea (ad esempio la psoriasi) non fossero parimenti caratterizzate da frequenti sovra infezioni batteriche come la dermatite atopica. Questo è dovuto al fatto che nella psoriasi e non dermatite atopica l'infiammazione cronica induce nei cheratinociti una sovraespressione di peptidi antimicrobici (Rieg S et al., 2005).

1.8 Reazioni di ipersensibilità

Il sistema immunitario ha una funzione fondamentale nella protezione dell'organismo, tuttavia i normali meccanismi protettivi possono talvolta causare reazioni dannose. Queste reazioni sono conosciute con il nome di reazioni di ipersensibilità, e la tradizionale classificazione immunopatologica di Gell e Combs (Gell PGH et al., 1963) le suddivide in quattro tipi:

Immediate: nella patogenesi di questo tipo di ipersensibilità sono coinvolte la predisposizione genetica, la produzione di reagine o immunoglobuline della classe E, e la degranulazione dei mastociti e dei basofili.

Perché avvenga una reazione di ipersensibilità di tipo 1, in primo luogo deve essere avvenuta una sensibilizzazione dell'antigene che può avvenire attraverso la via inalatoria, cutanea o attraverso l'ingestione. L'antigene viene processato dalle cellule di Langherans (von Bubnoff D et al., 2001) che poi migrano a livello dei linfonodi dove incontrano cellule T immature recanti specifici recettori per l'antigene. In caso di sensibilizzazione le cellule T immature sarebbero esposte ad una fonte di IL-4 di incerta origine che li porterebbe a maturare a cellule Th2, le quali producono IL-4 e IL-13 che stimolano i linfociti B a produrre IgE specifiche verso l'antigene. Al secondo contatto con l'antigene, quest'ultimo si lega alle IgE specifiche che a loro volta si legano a recettori ad alta affinità presenti sulla superficie cellulare di mastociti basofili. Questo causa la formazione e il rilascio di molti mediatori di infiammazione tra cui istamina, triptasi, proteoglicani, leucotrieni, fattori chemiotattici etc che determinano le classiche manifestazioni di questo tipo di ipersensibilità (orticaria, angioedema, anafilassi, atopia, ipersensibilità ai cibi, ipersensibilità al morso di pulce e reazioni avverse ai farmaci).

Citotossiche : sono caratterizzate dal legame di immunoglobuline di classe G o M ad antigeni di superficie cellulare con o senza la fissazione del complemento. A queste reazioni consegue la distruzione delle cellule bersaglio e possono essere responsabili di patologie autoimmuni quali il pemfigo, la crioglobulinemia e alcune allergie ai farmaci.

Da immunocomplessi: sono caratterizzate dalla deposizione di immunocomplessi circolanti costituiti da antigeni leganti IgG o IgM

che vanno a depositarsi nella parete dei capillari e che fissano il complemento, il quale attira i neutrofili che determinano danno tissutale. Queste reazioni sono alla base della patogenesi del lupus eritematoso sistemico, ipersensibilità ai batteri e reazioni avverse ai farmaci.

Cellulo-mediate: sono mediate dalle cellule T e non dalla produzione di particolari classi di anticorpi e coinvolgono antigeni incompleti, anche detti apteni o non immunogeni.

A livello cutaneo gli apteni vengono processati dalle cellule di Langherans, che li fagocitano e ne espongono frammenti sulla superficie cellulare in associazione a molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 2.

L'antigene viene così riconosciuto dai linfociti T che si sensibilizzano e producono citochine che inducono il danno tissutale. Le manifestazioni cliniche di questo tipo di ipersensibilità includono la dermatite da contatto, la dermatite atopica, l'ipersensibilità agli alimenti e l'allergia al morso di pulce.

La classificazione di Gell e Combs è tutt'oggi utilizzata da molti autori ed è ancora applicabile nella spiegazione dell'immunopatogenesi delle patologie da ipersensibilità della cute, altri autori invece affermano che questa classificazione sarebbe troppo generica e sono a favore di una classificazione più recente proposta dal Sell et al (Sell S et al., 1996) che suddivide le reazioni di ipersensibilità in sette categorie:

- Anticorpali da attivazione/inattivazione
- Anticorpali citolitiche/citotossiche
- Da immunocomplessi
- Allergiche
- Di citotossicità T cell mediata
- Di ipersensibilità ritardata
- Granulomatose

Questo sistema giustifica il fatto che molte componenti del sistema immunitario possono essere coinvolte in vari tipi di reazioni di ipersensibilità e che più tipi di reazioni ipersensibilità possono essere coinvolti nel determinismo di una singola patologia immunomediata (Anand KM e Routhers JM, 2010). Nella patogenesi della dermatite atopica ad esempio sono coinvolte reazioni di ipersensibilità di tipo 1 e 4.

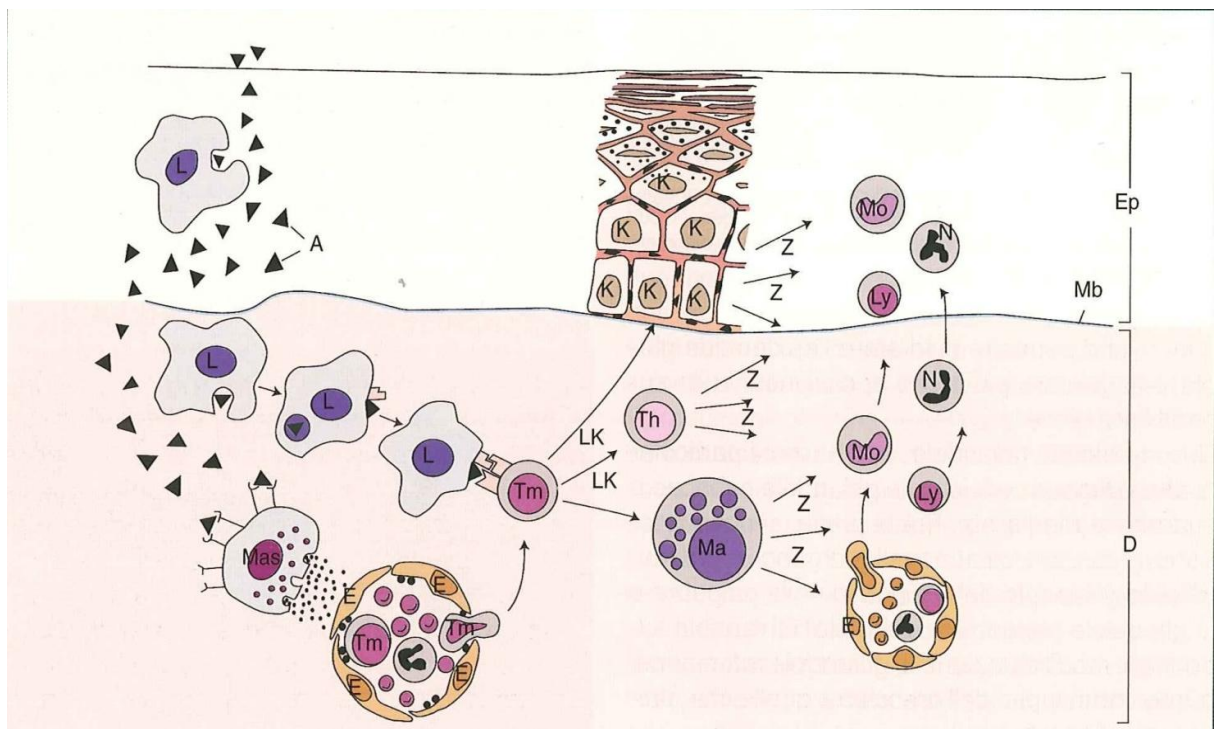


Fig 3 Schema del sistema immunitario cutaneo (Noli(a), 2011)

Capitolo 2. La dermatite atopica

La dermatite atopica è la più comune forma di allergia nel cane. Con il termine “*allergia*” si intende una risposta immunitaria esagerata da parte dell'organismo nei confronti di alcune sostanze definite *allergeni*. Questi sono costituiti da tutte quelle sostanze, innocue per i soggetti normali, capaci di determinare nei soggetti divenuti a esse sensibili specifiche reazioni immunitarie responsabili delle manifestazioni cliniche. In questi soggetti la caratteristica fondamentale è costituita dalla persistente produzione di particolari anticorpi e dalla presenza, nelle sedi cutanee affette, di infiltrati infiammatori nei quali le cellule maggiormente rappresentate sono eosinofili, mastociti e linfociti. La dermatite atopica canina fa parte delle malattie allergiche, insieme alle reazioni avverse al cibo, anche se solo alcuni casi riconoscono una vera eziologia allergica essendo talvolta causate da reazioni di altro tipo (intolleranza) e alla dermatite allergica da pulci (Abramo F et al., 2009).

La dermatite atopica (Atopic dermatitis, AD) canina è una dermatosi cutanea comune, cronica e recidivante (Olivry T et al., 2010), definita come una malattia pruriginosa ed infiammatoria con predisposizione genetica, aspetti clinici caratteristici, e associata alla sintesi di anticorpi IgE, più frequentemente diretti nei confronti di allergeni ambientali: (Halliwell R, 2006): acari della polvere (polvere di casa e acari delle derrate), pollini (alberi,erba, prati), spore, forfora, insetti (scarafaggi, falene) e altri (Millier WH et al., 2013). L'atopia del cane è una condizione clinica di ipersensibilità o allergia, accompagnata da prurito, grattamento, leccamento delle zampe, strofinamento del muso e talvolta starnuti. Il termine “atopia” significa letteralmente “estraneità” (malattia estranea). La denominazione < dermatite atopica > nell'uomo venne usata per la

prima volta da Coca e Sulzberger nel 1933 (Greci AM, 1982). E' stata riconosciuta una forma clinica simile alla dermatite atopica (Atopic-like dermatitis, ALD), nella quale i pazienti affetti manifestano gli stessi segni clinici di quelli con AD, ma nei quali è impossibile rilevare la presenza di IgE nei confronti di allergeni ambientali (o di altra natura) utilizzando i metodi diagnostici classici (Halliwell R, 2006).

2.1 Epidemiologia

La dermatite atopica è una malattia comune nel cane e meno frequente nel gatto; l'incidenza nella popolazione canina varia dal 10 al 20 per cento, mentre l'incidenza nel gatto non è conosciuta (Noli C e Toma S,(d) 2011).

E' estremamente difficile determinarne la prevalenza per diversi aspetti:

- casi lievi spesso sono gestiti con successo tramite terapia sintomatica senza che sia stata emessa una diagnosi specifica;
- alcune manifestazioni cliniche spesso non sono riconosciute dai proprietari e veterinari come facenti parte della dermatite atopica (es. otiti croniche, infezioni batteriche e da malassezia);
- non ci sono metodi documentati affidabili per dimostrare che la malattia clinica è indotta dall'esposizione ad allergeni in cani con ipersensibilità agli allergeni. (Hiller, Griffin, 2001) (ACDV I)

La predisposizione a sviluppare la malattia è ereditaria e i soggetti di razza pura sembrano più colpiti, anche a causa dell'alta consanguineità. In letteratura, sono riportate numerose predisposizioni di razza, che variano notevolmente da testo a testo: quelle a più alto rischio sono Pastore tedesco, Pit bull e American

Staffordshire, Labrador e Golden retriever, Dalmata, Boxer, Bulldog inglese e francese, Shar pei, Shih tzu e West Highland white terrier (Noli C e Toma S,(d) 2011), Cairn terrier e Fox Terrier (Sousa CA e Marsella A, 2001), Beagle e Cavalier King, Setter inglese e irlandese (Abramo F et al.,(b) 2009).

Ad ogni modo, l'atopia è stata riscontrata in quasi tutte le razze di cani e negli incroci (Greci AM, 1982).

La malattia colpisce entrambi i sessi, ed è considerata una malattia del cane giovane, poiché la maggior parte dei soggetti inizia a manifestare i sintomi tra il primo e il terzo anno di vita. E' possibile in alcune razze, come lo Shar pei, che la sintomatologia compaia più precocemente (Abramo F et al., 2009).

Talvolta la sintomatologia può essere più tardiva in soggetti che hanno avuto contatto con gli allergeni solo in età più avanzata (soggetti adulti trasferiti da aree geografiche con bassa pressione allergenica ad aree geografiche con alta pressione allergenica) (Noli C e Toma S,(d) 2011).

2.2 Eziopatogenesi

La patogenesi della dermatite atopica canina non è ancora del tutto conosciuta, ma le molteplici somiglianze con quella umana, sia a livello epidemiologico che clinico, suggeriscono che i meccanismi immunopatologici che portano alla manifestazione della lesione possono essere comparati. Infatti, è proprio per questo, che la specie canina è spesso utilizzata come modello sperimentale per gli studi eziopatogenetici della malattia umana (Noli C e Toma S,(d) 2011). Storicamente, la dermatite atopica è stata considerata come una reazione di ipersensibilità di tipo I, mediata da IgE, che inducono degranulazione mastocitaria e conseguente prurito. Con lo sviluppo

di nuove metodologie e con l'avanzare delle ricerche, è stata definita come una malattia multifattoriale, causata da anomalie immunitarie (ipersensibilità di tipo I e IV), anatomiche (difetti della barriera cutanea), genetiche e fattori ambientali (predisposizione per cani che vivono in door e in ambienti urbani), inclusi i microrganismi (batteri e malassezie) (Noli C e Toma S,(d) 2011). Gli allergeni che causano fenomeni di ipersensibilità possono ritrovarsi sia negli ambienti interni, come acari della polvere e muffe, sia negli ambienti esterni, come pollini di alberi e graminacee; questi allergeni solitamente penetrano all'interno dell'organismo tramite due vie, percutanea o inalatoria. Lo sviluppo di ipersensibilità ad un determinato gruppo di allergeni dipende fortemente dall'ambiente in cui l'animale vive: ad esempio, un soggetto che vive in appartamento tenderà a sviluppare più frequentemente un'allergia agli acari della polvere e a soffrire di prurito per tutta la durata dell'anno, mentre un soggetto che vive all'esterno tenderà a sviluppare maggiormente allergie verso allergeni di piante ed alberi e a soffrire di prurito nei periodi d'impollinazione. E' possibile anche osservare, non raramente, forme allergiche verso allergeni sia di ambienti esterni che di quelli interni nello stesso soggetto e, pertanto, un prurito inizialmente stagionale può diventare annuale. La possibilità che i trofoallergeni, cioè gli allergeni alimentari, possano causare una DA è ancora controverso; nella specie umana, recenti studi, hanno dimostrato che in soggetti atopici i sintomi possono essere scatenati dalla dieta. Probabilmente questo meccanismo può verificarsi anche nel cane, ma non essendoci ancora evidenze scientifiche, le reazioni avverse al cibo sono ancora inquadrare come malattie a sé stanti.

L'immunopatogenesi della DA vede implicate reazioni di ipersensibilità I e IV, mediate da IgE e dalla regolazione dei linfociti Th2, contro allergeni che vengono a contatto soprattutto attraverso la barriera cutanea indebolita (Abaramo F et al., 2009). Nella prima

fase della malattia, detta di *sensibilizzazione*, un allergene, quale una molecola proteica di pollini, muffe, acari o corneociti nella polvere di casa, dal peso molecolare che varia tra 20 e 200 KD, penetra nell'organismo attraverso un epitelio (epidermide o mucose). L'allergene viene in contatto con le cellule di Langherans, localizzate a livello epidermico con il ruolo di sentinella immunologica, che catturano e processano l'allergene, lo espongono sulla superficie (Noli C e Toma S,(d) 2011) e migrano al linfonodo regionale, dove si ha la stimolazione dei linfociti Th2 e produzione di linfociti B che si trasformano in plasmacellule secernenti immunoglobuline IgE (Abaramo F et al., 2009). Queste ultime dal linfonodo si riversano nel torrente ematico e da quì a tutti i distretti corporei e si fissano sulle membrane dei mastociti, che nel cane risiedono principalmente nel derma cutaneo e nella sottomucosa intestinale. Questa prima fase di sensibilizzazione richiede almeno 6 mesi di esposizione allergenica. Nella seconda fase della malattia, detta *fase acuta*, l'allergene, nuovamente entrato in contatto con l'organismo, viene catturato dalle cellule di Langherans e presentato direttamente al mastocita sensibilizzato dalla presenza di IgE sulla sua superficie. Il legame allergene-IgE causa la degranulazione mastocitaria, con rilascio di diversi mediatori vasoattivi (fra cui l'istamina) e della flogosi. Il sintomo associato a questa fase è l'eritema, segno clinico primario della dermatite atopica, legato alla dilatazione del letto vascolare nei siti esposti. I mediatori proinfiammatori rilasciati dai mastociti attivano i cheratinociti e richiamano una serie di cellule (linfociti, eosinofili e macrofagi), che producono nuove citochine in grado di alimentare l'infiammazione, anche in assenza di istamina. Questa è la terza fase, detta *fase cronica*, e prescinde dalla presenza di IgE, essendo più simile all'immunità cellulo-mediata, tipica dell'ipersensibilità di tipo IV. Il segno clinico associato a questa fase è la formazione di piccole papule eritematose e d'intenso prurito. La

distribuzione di mastociti nel derma del cane è maggiore in alcune aree corporee, come padiglioni auricolari, incavo ascellare e spazi interdigitali: queste, insieme a faccia e inguine, sono le regioni maggiormente colpite da dermatite atopica (Noli C e Toma S,(d) 2011).

È stato scoperto che i cheratinociti dei soggetti atopici hanno numerosi difetti funzionali e morfologici. Ad esempio, in corso di dermatite atopica i cheratinociti sono maggiormente predisposti a secernere mediatori della flogosi, arrivando a rilasciare fino a trenta diverse molecole proinfiammatorie, anche in risposta a stimoli di lieve entità.

Sempre nei soggetti atopici, è stato dimostrato che i cheratinociti producono minori quantità di *defensine*, cioè proteine antimicrobiche deputate al controllo della flora microbica cutanea. Questo spiegherebbe perchè i soggetti atopici sono maggiormente predisposti allo sviluppo di infezioni secondarie. Una differenza importante, tra soggetti atopici e soggetti normali, risiede nella struttura morfologica dell'epidermide. In corso di malattia, gli spazi intercellulari fra i cheratinociti che costituiscono lo strato corneo sono più larghi e con minori quantità di lipidi intercellulari. Queste sostanze, che appartengono alla famiglia delle ceramidi e degli acidi grassi, svolgono un'importante funzione di barriera tra esterno e interno assicurando anche l'impermeabilità dell'epidermide. Anche un'altra proteina, denominata *filaggrina*, responsabile della formazione dello strato corneo, è espressa in minore quantità nei soggetti atopici, forse per una mutazione genetica. Altri fattori sono sicuramente coinvolti nella patogenesi della malattia, come condizioni ambientali, igieniche e qualche forma di imprinting, che viene impartito al sistema immunitario nelle prime fasi di vita di questi pazienti. Ma al momento, la migliore definizione che descrive la dermatite atopica è quella di malattia a

predisposizione ereditaria, pruriginosa, cronica, associata ad un difetto della barriera cutanea e, nella maggior parte dei casi, alla produzione di alti livelli di IgE nei confronti di antigeni ambientali (Noli C e Toma S,(d) 2011).

2.3 Sintomatologia

Il sintomo principale e primario della malattia è il prurito, che può essere associato ad eritema o essere presente come unico segno, senza nessuna altra lesione (Noli C e Toma S,(d) 2011). Esso è d'intensità variabile, lieve nella fasi iniziali, tende ad aumentare con il cronicizzare della malattia fino a diventare incoercibile in alcuni soggetti (Abaramo F et al., 2009). La localizzazione classica della malattia vede coinvolti aree periorculari, labbra, padiglioni auricolari, faccia ventrale del collo, regione ascellare, piega cutanea dell'inguine, superfici flessorie del gomito e faccia dorsale degli arti anteriori (in prima istanza) e posteriori (solo secondariamente), oltre che spazi interdigitali dorsali e ventrali (fig.1)



Fig. 1 Localizzazione dell'eritema (Noli(d), 2011)

A causa del leccamento o grattamento di queste aree, la cute subisce un trauma cronico, che porta a iperplasia e iperpigmentazione delle aree affette. Spesso presenti escoriazioni ed alopecia autoindotta. Nei cani a pelo chiaro si può riscontrare una colorazione rossastra (color ruggine) del pelo: questa è dovuta all'azione di alcuni enzimi contenuti nella saliva sulle proteine che costituiscono il pelo ed è detta *colorazione salivare* (fig.2).



Fig.2 Colorazione salivare (Noli,(d) 201

Lo sviluppo di piodermite, sovracrescita batterica e dermatite da *Malassezia*, contribuisce in maniera sensibile all'aumento della sintomatologia pruriginosa (Abaramo F et al., 2009). La piodermite (presente nel 68% dei pazienti) si manifesta con papule, pustole, collaretti epidermici, scaglie, croste e alopecia multifocale, che negli animali a pelo corto conferisce al mantello aspetto “tarlato”. La sovracrescita batterica e la dermatite da *Malassezia*, spesso associate, si presentano clinicamente con eritema, seborrea oleosa, iperplasia e iperpigmentazione, soprattutto nelle aree ventrali del corpo, e, nei casi cronici, con importante lichenificazione. I soggetti allergici sono predisposti allo sviluppo di otite ricorrente (uno studio riporta che sia presente nell'86% dei casi) (Millier WH et al., 2013), che può essere eritematosa (se non complicata da infezioni) o ceruminosa e purulenta (in caso d'infezione da lieviti e/o batteri) (Noli C e Toma S,(d) 2011). La presenza di lacrimazione, infiammazione oculare, starnuti o rinorrea può essere indicativa di

congiuntivite (presente nel 50% dei pazienti) e rinite allergica concomitante (Olivry T et al., 2010).

I sintomi sistemici sono rari, salvo presenza di grave infezione batterica profonda, ma la qualità della vita è compromessa, specie in corso di infezioni concomitanti, che esacerbano il prurito primario causato dalla reazione allergica stessa (Noli C e Toma S,(d) 2011).

2.4 Concetto della soglia del prurito

La dermatite atopica è una patologia caratterizzata dalla presenza di prurito cronico con esacerbazioni cicliche. Ogni individuo possiede una propria soglia di tolleranza al prurito, del tutto individuale, così come succede per il dolore. Infatti, dolore e prurito, per alcuni autori rappresentano la stessa sensazione, mentre per altri condividono alcuni aspetti fisiologici (neurologici e molecolari). Ogni stimolo pruriginoso può essere maggiore o minore della soglia di tolleranza e può indurre o non indurre un riflesso o un'azione volontaria di grattamento, atta a interrompere, almeno temporaneamente, la sensazione di prurito. Si può creare sinergia tra i diversi stimoli pruriginosi: ovvero, se sullo stesso paziente e nello stesso momento agiscono diversi fattori stimolanti il prurito, con potere inferiore alla soglia, le forze di ciascuno si sommano e la stimolazione sommatória che ne deriva è capace di superare la soglia individuale di tolleranza. Questo succede sovente in corso di allergie stagionali, ogni volta che è presente un'infezione complicante il quadro dell'allergia, in presenza di pulci o di concomitante allergia alimentare e ambientale. Per questi motivi, alcuni fattori non correlati agli allergeni ambientali, come pulci, batteri, lieviti o alimenti, possono agire da fattori "scatenanti" la dermatite atopica, predisponendo il paziente a manifestazioni di prurito, anche con stimoli allergenici minimi.

Inoltre, la soglia di tolleranza al prurito di ogni paziente non è costante, ma può variare in seguito a una serie di condizioni fisiologiche, patologiche o ambientali: stress, ansia, secchezza cutanea e temperatura ambientale sono esempi di fattori che possono abbassare questa soglia e causare, quindi, esacerbazioni della dermatite atopica, anche in condizioni allergeniche piuttosto costanti (Noli C e Toma S,(d) 2011).

2.5 Ruolo delle infezioni nella DA

In corso di dermatite atopica è spesso dimostrabile la presenza di infezioni batteriche e/o dermatite da Malassezia. Questi microrganismi, oltre che aggravare il quadro clinico del soggetto atopico (prurito e lesioni), stimolano anche il sistema immunitario, il quale, per difendersi dalle infezioni, esacerba la risposta allergica. I soggetti affetti da dermatite atopica sono maggiormente inclini a contrarre infezioni batteriche rispetto a cani sani. Gli stafilococchi sono comunemente isolati sia in cani normali che in cani atopici, ma in questi ultimi sono presenti in maggiori quantità. È stato dimostrato, infatti, che esiste maggiore adesività batterica ai corneociti nei soggetti atopici, se confrontati con quelli normali, e che questa maggiore adesività è presente sia nelle aree lesionali sia in quelle non lesionali dello stesso soggetto. Questo fenomeno potrebbe essere associato a minore produzione da parte dei soggetti atopici di defensine, peptidi con proprietà antimicrobiche presenti sulla superficie cutanea prodotti dai corneociti, o a maggiore esposizione di recettori, quali fibronectina, sulla superficie cellulare, che permettono l'adesione dei microrganismi. I batteri sono inoltre capaci di indurre una vera e propria risposta allergica: gli antigeni batterici sono in grado di

penetrare attraverso la cute lesionata e causare degranulazione mastocitaria e produzione di IgE antibatteriche specifiche. Tuttavia, il ruolo degli antigeni batterici come allergeni nella dermatite atopica deve venire ancora provato con certezza e l'ipersensibilità batterica sembra una condizione piuttosto rara nel cane. Alcune tossine batteriche, inoltre, si comportano come “superantigeni”, cioè antigeni che sono in grado di stimolare numerosi ceppi di linfociti T in maniera aspecifica e antigene-dipendente: questa attivazione linfocitaria induce una risposta immunitaria amplificata nei confronti degli antigeni batterici, ma anche degli allergeni ambientali, con peggioramento dei segni clinici di allergia. I lieviti del genere *Malassezia* sono responsabili di un'infezione molto pruriginosa che contribuisce all'aggravamento della sintomatologia in corso di dermatite atopica. Il numero di lieviti che albergano sulla cute di animali affetti da allergia è maggiore rispetto a quello ritrovato su cani normali. Si ritiene che la predisposizione allo sviluppo di dermatite da *Malassezia* negli animali atopici sia dovuta ad un difetto immunitario. Nei soggetti atopici la presenza di *Malassezia* induce numerose reazioni tipiche di allergia, quali alti livelli di IgE-sieriche, reazioni cutanee ai test allergometrici immediate e ritardate e proliferazione linfocitarie in vitro. In particolare, questi lieviti sono in grado d'indurre la proliferazione di cloni linfocitari di tipo Th2 lievito-specifici, che peggiorano, quindi, la reazione allergica. Sono stati identificati anche nel cane allergeni maggiori e minori di *Malassezia*, con peso molecolare da 10 a 100 kD. Questi allergeni sono in grado d'indurre il rilascio d'istamina. Per *Malassezia* non è stata rilevata produzione di superantigeni. Questi microrganismi e/o le loro tossine sono in grado di peggiorare la sintomatologia in corso di dermatite atopica, non solo con colonizzazione e infezione della cute, ma anche inducendo risposte d'ipersensibilità specifiche o attivazione non specifica dei linfociti T

tramite superantigeni. Tuttavia, a tutt'oggi, non è ancora stato provato con certezza il coinvolgimento diretto di questi microrganismi nella patogenesi delle lesioni della dermatite atopica (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Capitolo 3. Approccio diagnostico alla dermatite atopica

3.1 Diagnosi della DA

La diagnosi di dermatite atopica è complessa, poiché è basata principalmente sul segnalamento del paziente, sui segni clinici e sull'anamnesi della malattia, e non sulla base di test di laboratorio (Griffin CE e DeBoer DJ, 200; DeBoer DJ e Hillier A, 2001). Inoltre è necessario escludere la presenza di altre malattie che potrebbero mimare i segni clinici (Olivry T et al., 2010). Riassumendo, i tre aspetti fondamentali da valutare per giungere alla diagnosi di DA sono:

- ✓ anamnesi tipica
- ✓ presenza dei caratteristici segni clinici
- ✓ esclusione di altre diagnosi differenziali

(Millier WH et al., 2013)

Una visita dermatologica dura in media dai 45 ai 60 minuti, inclusi gli esami collaterali. Di questi, solitamente, 20 minuti sono dedicati al segnalamento e all'anamnesi, 10 minuti alla visita clinica dell'animale, 15 minuti all'esecuzione degli esami collaterali e gli ultimi 15 minuti all'informazione e all'educazione del proprietario. E' sempre consigliabile ed opportuno riportare tutti i dati raccolti su una scheda dermatologica, divisa in sezioni: segnalamento, anamnesi, visita clinica, lista delle diagnosi differenziali, esami collaterali, diagnosi definitiva, terapia e follow-up.

Segnalamento

Oltre a tutti i dati relativi al proprietario, è importante riportare alcune informazioni relative all'animale, quali: nome del paziente, età di nascita, specie, razza, sesso e stato riproduttivo. E' sempre importante indicare la razza del paziente, poiché in dermatologia veterinaria alcune razze sono maggiormente predisposte rispetto ad altre a patologie cutanee. Nel caso della dermatite atopica le razze più predisposte sono: Alano, Bulldog inglese e francese, Pastore Tedesco, Basset Hound, Shar-pei, Boxer, Dalmata, Carlino, Cocker, Labrador e Golden retriever, Jack Russel, Shihtzu, West Highland Whit Terrier.

Anamnesi

La raccolta anamnestica inizia sempre chiedendo al proprietario qual è il *motivo della visita*. Questa domanda è mirata a capire, fra i tanti problemi che può presentare l'animale, quale viene percepito dal proprietario come più importante; solitamente in corso di dermatite atopica il problema principale è il prurito e il conseguente eccessivo lambimento o grattamento che possono esitare, nei casi più gravi, in autotraumatismo. Inquadrato il motivo della visita, bisogna capire se l'animale è già stato trattato per questo problema, quali farmaci sono stati utilizzati e se c'è stata risposta alla terapia, anche minima. È di fondamentale importanza sapere l'*età d'insorgenza* dei sintomi, poiché la dermatite atopica generalmente compare tra il primo anno di età e il terzo e se gli stessi problemi sono presenti anche nei genitori o fratelli di cucciolata, in quanto è considerata malattia genetica. Non meno importante è chiedere direttamente al proprietario di descrivere il tipo di lesioni presenti, quando è avvenuta la comparsa, la localizzazione, la loro evoluzione e, se il sintomo principale è il prurito, definire, secondo la propria

percezione, il grado di intensità su una scala da 0 a 10 (0 = assenza del prurito, 10 = massima intensità del prurito). Altre domande sono volte a capire il grado di cura che ha il proprietario verso il proprio animale, ottenendo informazioni sulle vaccinazioni annuali, sugli esami periodici delle feci e sulla profilassi della filariosi cardiopolmonare (dove consigliata). Si formulano domande sulle condizioni di vita dell'animale: cosa mangia, dove vive, presenza di altri animali e se questi presentano problemi simili e indagando le grandi funzioni organiche (appetito, urinazione, defecazione).

Visita dermatologica La visita dermatologica in realtà inizia già nel momento in cui si raccoglie l'anamnesi dal proprietario e apparentemente non ci si cura dell'animale. Collocato l'animale sul tavolo da visita, si inizia valutando: mucosa congiuntivale, cavità buccale, orecchio esterno, linfonodi; successivamente si pone l'attenzione sulla lucentezza e foltezza del pelo, sul colore del mantello, odore emanato e localizzazione delle lesioni visibili. In corso di dermatite atopica il segno primario è l'eritema localizzato negli spazi interdigitali, nel cavo ascellare e inguinale, nella regione perioculare (congiuntivite) e perilabiale, nel padiglione auricolare esterno (otite). Nei casi molto gravi è possibile individuare aree di iperpigmentazione e lichenificazione, nonché spesso è identificabile sovrainfezione batterica e da *malassezia*.

Diagnosi differenziali Raccolti tutti i dati dall'anamnesi e dalla visita clinica, è possibile stilare una lista di diagnosi differenziali, non eccessivamente lunga (4-5 malattie al massimo), ordinate dalla più probabile alla meno probabile (Noli C e Toma S,(b) 2011).

Nell'approccio diagnostico alla dermatite atopica le più probabili diagnosi differenziali sono: rogna demodettica, rogna sarcoptica, ipersensibilità al morso di pulce, ipersensibilità ai cibi. Per escludere la rogna sarcoptica è bene trattare il paziente con un'adeguata terapia antiparassitaria a base di selamectina o

moxidectina/imidacloprid spot-on ogni 15 giorni per 3 volte. Se presenti forme batteriche vanno trattate con terapia antibiotica per almeno 3-4 settimane. Escluse le forme batteriche e parassitarie, il paziente deve eseguire una visita di controllo per valutare il prurito residuo, che, se localizzato su testa ed estremità, in assenza di infezioni, è indicativo di una forma allergica. Se la sintomatologia è stagionale, si può escludere l'allergia alimentare, che per definizione causa prurito non stagionale. Se il prurito è presente nell'arco di tutto l'anno e non subisce modificazioni stagionali, è invece necessario escludere l'allergia alimentare mediante dieta ipoallergenica per almeno 8 settimane. Se la dieta non ha condotto a nessun miglioramento clinico, e solo dopo aver trattato le infezioni e la rogna sarcoptica, si può emettere diagnosi di dermatite atopica, che resta una diagnosi clinica basata sull'esclusione delle altre malattie pruriginose (Noli C e Toma S,(b) 2011).

3.2 Criteri diagnostici: Prelaud e Favrot

I segni clinici presenti nei cani con dermatite atopica sono stati descritti per oltre 60 anni. Solo negli anni '80 è stato effettuato il primo tentativo di quantificare la frequenza dei segni clinici della DA. Tuttavia, è difficile confrontare i risultati degli studi poiché i criteri di diagnosi della DA variano tra i diversi studi. Solo in due studi (Willemse, 1986), la diagnosi di DA fu basata sulla presenza di prurito su faccia, zampe e cuscinetti plantari. Mentre, gli altri studi prevedevano il riscontro solo di prurito come criterio di inclusione. I risultati di questi due studi sui siti in cui si presentano le manifestazioni cliniche della DA sono: zampe 100% in entrambi, faccia 100% in entrambi, ventre più del 35%, orecchie e otiti 17%, starnuti 22% e 48%, congiuntiviti 30% e 50%, piodermiti 27%. Alla

fine degli anni '80 furono proposti nuovi criteri clinici per la diagnosi definitiva della DA. La dermatite atopica, infatti, non presenta caratteristiche cliniche patognomoniche che permettono di effettuare una diagnosi definitiva al momento dell'osservazione iniziale del paziente o durante il colloquio con il proprietario o l'esame fisico. Si deve sottolineare il fatto che nessuna particolare caratteristica storica o clinica, nessun risultato di un singolo test e nessuna particolare risposta ad un intervento terapeutico potrà mai confermare realmente la diagnosi di DA. In realtà, probabilmente l'unico modo per diagnosticare inequivocabilmente lo stato di ipersensibilità sarebbe quello di provocarla sperimentalmente attraverso l'esposizione controllata all'allergene. Queste manipolazioni sono nella migliore delle ipotesi difficili ed impraticabili e nella peggiore impossibili e dannose per il paziente. Una lista di criteri di diagnosi clinica è stata estrapolata, per la DA canina, da Willemse nella metà degli anni '80, a partire da checklist destinate alla DA umana. Sfortunatamente, questi criteri non furono mai valutati per quanto riguarda la sensibilità, la specificità e l'accuratezza per la diagnosi della DA canina. Più recentemente, una lista di cinque maggiori criteri per la diagnosi della DA canina è stata proposta da Prélaud et al. (1998). (Tab.1)

Tab.1 (Willemse, 1986; Prelaud et al., 1998)

Canine AD	
Willemse (1986)	Prèlaud et al. (1998)
<i>Major features</i>	<i>Major criteria</i>
Il paziente deve avere almeno tre delle seguenti caratteristiche:	Il paziente deve avere almeno tre delle seguenti cinque caratteristiche:
-Prurito;	-Prurito sensibile ai
-Morfologia e distribuzione tipiche: coinvolgimento facciale e/o digitale o lichenificazione della superficie flessoria o dell'articolazione tarsale e/o della superficie estensoria dell'articolazione carpale;	corticosteroidi;
-Dermatite cronica o cronica-recidivante;	-Eritema della pinna;
-Storia familiare o individuale di atopia, e/o predisposizione di razza.	-Pododermatite eritematosa craniale e bilaterale;
<i>Minor features</i>	-Cheilite;
	-Comparsa dai primi segni tra i sei mesi e i tre anni d'età.

<p>Almeno tre delle seguenti caratteristiche inoltre dovrebbero essere presenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Inizio dei sintomi prima dei tre anni di età; -Eritema facciale e cheilite; -Congiuntivite batterica; -Pioderma superficiale stafilococcico; -Iperidrosi; -Positività immediata al test intradermico agli inalanti; -Elevate concentrazioni sieriche di IgE allergene-specifiche; -Elevate concentrazioni sieriche di IgGd allergene-specifiche. 	
---	--

La presenza di tre criteri su cinque in un paziente risulta avere una sensibilità e specificità diagnostica circa dell'80%.

Recentemente è stato validato un secondo criterio diagnostico per la DA. Il fautore è C. Favrot che riassume un insieme di criteri sottoforma di “lista di controllo” (Favrot C et al., 2010) (Tab.2).

Tab.2 (Favrot C et al., 2010)

Insorgenza dei sintomi al di sotto dei 3 anni di età
Canì che vivono prevalentemente in casa
Prurito sine materia all'esordio
Presenza di infezioni croniche o ricorrenti da lieviti
Interessamento dei piedi anteriori
Interessamento dei padiglioni auricolari
Non interessati i margini dei padiglioni auricolari
Non interessamento delle regioni dorso-lombari

Si dovrebbe tuttavia tenere presente che questi criteri non sono assoluti; se questi parametri fossero applicati rigorosamente, approssimativamente un caso su cinque (20%) potrebbe essere diagnosticato in maniera errata. D'altra parte, escludendo correttamente ectoparassiti e infezioni cutanee, ci si aspetta che la specificità di questi criteri diagnostici cresca significativamente. Infine, è importante considerare che nelle fasi iniziali di DA, le lesioni difficilmente si osservano in tutte le aree corporee classiche, e che il prurito potrebbe essere presente senza lesioni visibili (Olivry T et al., 2010).

3.3 Biopsia cutanea ed esame istopatologico

Le aree preferibili per effettuare una biopsia in corso di DA sono le lesioni eritematose non complicate da infezioni secondarie.

L'osservazione di un preparato istopatologico non può fornire una diagnosi certa di DA, ma consente di individuare un insieme di lesioni che, nel loro complesso, possono confermare il sospetto clinico.

Epidermide: gradi variabili di iperplasia caratterizzata da arrotondamento regolare della rete-ridge. L'epidermide è sede di spongiosi basale e soprabasale ed esocitosi di piccoli linfociti; si osservano inoltre cheratosi ortokeratosica con aree focali di paracheratosi e occasionali piccole croste siero cellulari. Un reperto piuttosto frequente, ma non patognomonico, è il ritrovamento di focolai di iperplasia delle cellule di Langherans riconoscibili come cellule di aspetto dendritico, raggruppate in formazioni nodulari chiare nel contesto dello strato spinoso intensamente eosinofilo.

Derma: dermatite superficiale da perivascolare a interstiziale con distribuzione omogenea per tutta la lunghezza della biopsia. L'infiltrato è costituito da mononucleati tra cui prevalgono i linfociti e i mastociti. Sono presenti in numero variabile anche eosinofili, che tendono ad essere meno numerosi nelle lesioni croniche, neutrofili e plasmacellule, che si osservano invece per lo più in associazione a piodermite secondaria.

Annessi: i follicoli sono in fase di crescita, si osserva solitamente una marcata iperplasia/ipertrofia delle ghiandole sebacee. Tale aspetto è però comune ad altre malattie dermatologiche croniche e pertanto deve essere valutato con cautela. Bisogna considerare che in alcune aree del corpo, come ad esempio la faccia, in cui spesso si osservano

le lesioni da dermatite atopica, le ghiandole sebacee sono normalmente di dimensioni maggiori (Abaramo F et al., 2009).

3.4 Diagnostica differenziale

Le principali patologie cutanee che possono mostrare segni clinici simili alla DA, e che quindi è bene escludere per poter giungere ad una finale diagnosi di dermatite atopica, sono: Rogna demodettica, Rogna sarcoptica, Allergia al morso di pulce, Ipersensibilità o Allergia ai cibi, Dermatite da contatto.

Per escludere o diagnosticare una di queste diverse malattie è bene considerare la stagionalità. Infatti, ad esempio, la dermatite da morso di pulce è considerata una malattia stagionale, mentre l'allergia alimentare, la rogna sarcoptica e la dermatite da contatto sono considerate malattie non stagionali.

3.4.1 La demodicosi (rogna demodettica)

La demodicosi canina è una malattia causata dall'infestazione di acari del genere *Demodex*. Sono attualmente riconosciute due specie: *D. canis* e *D. injai*.

Gli acari del genere *Demodex* hanno corpo allungato e affusolato e sono provvisti di 4 paia di arti tozzi, in corrispondenza dell'estremità anteriore del corpo, che terminano in piccoli artigli smussati negli adulti (fig.1) (Taylor MA et al., 2010).



Fig.1 *Demodex canis* (Noli,(c) 2011)

Il *D. canis* è il parassita più comunemente presente nel cane e si localizza nei follicoli piliferi e nelle ghiandole sebacee (Taylor MA et al., 2010). Il contagio con esso avviene nel cucciolo per contatto con la madre nei primi tre giorni di vita, durante l'allattamento (Noli C e Toma S,(c) 2011).

La patogenesi è molto complessa poiché si ritiene che fattori immunitari contribuiscano al suo sviluppo e alla sua gravità.

Si ritiene che alcune cagne siano portatrici di un fattore genetico responsabile di uno stato di immunodeficienza alla progenie rendendo i cuccioli maggiormente suscettibili a contrarre la rogna. Inoltre, gli acari stessi sono ritenuti responsabili di una forma di

immunodeficienza cellulo-mediata che blocca la risposta T-linfocitaria (Taylor MA et al., 2010).

La demodicosi nella maggior parte dei casi non è contagiosa.

Poiché il parassita vive nel follicolo pilifero, dove causa follicolite, il segno clinico più classico è l'alopecia focale o multifocale; mentre il sintomo principale in corso di DA è il prurito, non presente nella demodicosi.

È anche frequente, come nella DA, il cambiamento di pigmentazione della cute, che assume caratteristico colore grigio ardesia, per formazione di comedoni.

Il soggetto atopico presenta, quasi nella totalità dei casi, eritema dell'epidermide; questa manifestazione clinica è caratteristica anche della demodicosi, tant'è che il nome popolare della rogna è "rogna rossa".

Le sovra infezioni batteriche anche in questo caso, come nella DA, sono frequenti e si manifestano con la formazione di papule, pustole, scaglie e croste.

In rari casi, il parassita può essere trovata all'interno del condotto auricolare, dove causa otite ceruminosa molto spesso complicata da infezione batterica e formazione di pus.

Le lesioni nelle forme giovanili, con esordi in soggetti con meno di due anni, sono localizzate prevalentemente sulla testa (zona perioculare e perilabiale, fronte, mento) e sugli arti anteriori.

Nelle forme dell'adulto, con esordio oltre i due anni di età, la malattia tende ad essere più generalizzata, coinvolgendo anche tronco, arti posteriori e groppa.

Nel paziente affetto da dermatite atopica, invece, le aree più interessate da lesioni sono: area perioculare, labbra, padiglioni auricolari, faccia ventrale del collo, regione ascellare, piega cutanea

dell'inguine, superfici flessorie del gomito e faccia dorsale degli arti anteriori e posteriori, spazi interdigitali dorsali e ventrali.

La diagnosi della demodicosi è molto semplice e, a differenza della dermatite atopica che viene diagnosticata clinicamente, avviene mediante osservazione di numerosi parassiti con raschiato cutaneo profondo.

I farmaci di prima scelta per debellare il Demodex sono l'amitraz e l'ivermectina; altre due molecole efficaci sono le milbemicine (milbemicina ossima e moxidectina) (Noli C e Toma S,(c) 2011)

Qualunque sia la scelta terapeutica è di fondamentale importanza che il clinico interrompa la terapia quando si sia ottenuta la guarigione parassitaria, e non clinica.

A tal fine, per evitare recidive, la terapia va interrotta solo quando si ottengono due raschiati profondi negativi effettuati a distanza di 3-4 settimane fra loro (Abramo F et al.,(a) 2009).

3.4.2 La scabbia canina (rognia sarcoptica)

La scabbia è una dermatosi papulo-crostosa, non stagionale, intensamente pruriginosa del cane causata dall'acaro epidermico *Sarcoptes scabiei* var *canis* (Millier WH et al., 2013). E' una malattia molto contagiosa e i cani si infettano principalmente per contatto diretto (Abramo F et al.,(a) 2009), e questo aspetto la differenzia profondamente dalla DA che invece è una malattia genetica.

Il parassita è caratterizzato da arti rudimentali corti e tozzi, (fig.2) e da un corpo rotondeggiante (Noli C e Toma S,(c) 2011).



Fig.2 *Sarcoptes scabiei* (Noli,(c) 2011)

E' un acaro scavatore che compie tutto il ciclo biologico sull'animale vivendo tra i corneociti, all'interno dei quali scava delle caverne nelle quali depone le uova (Abramo F et al.,(a) 2009).

La scabbia nella forma più tipica si manifesta come una malattia intensamente pruriginosa con lesioni primarie costituite da papule o papulo-croste di piccole dimensioni, localizzate su faccia esterna del padiglione auricolare, area perioculare, gomiti, talloni, inguine, in generale sulla parte inferiore del corpo (Noli C e Toma S,(c) 2011).

Essendo una malattia molto pruriginosa, sovente si osservano lesioni da autotraumatismo quali escoriazioni, ulcere, croste (Abramo F et al.,(a) 2009) e infezioni secondarie (Noli C e Toma S,(c) 2011).

Tuttavia, occasionalmente, si osservano manifestazioni cliniche differenti. In pazienti particolarmente predisposti a una risposta allergica, la scabbia si presenta con lesioni minime, per lo più eritema e rare escoriazioni, ma prurito intenso. Questo tipo di forma clinica viene definito “ scabbia incognita” per il numero molto basso di parassiti che questi pazienti ospitano. Il quadro clinico opposto,

caratterizzato da spesse croste, iperplasia epidermica, scarso prurito e presenza di numerosissimi acari, e definito “scabbia norvegese”, osservata in genere in pazienti immunodepressi (Noli C e Toma S,(c) 2011).

La tecnica d'elezione per la diagnosi di scabbia è il raschiato cutaneo superficiale (Abramo F et al.,(a) 2009), da eseguire preferibilmente nel padiglione auricolare (Noli C e Toma S,(c)2011) o su papule crostose e scaglie (Abramo F et al.,(a) 2009).

La terapia d'elezione della rogna sarcoptica è l'utilizzo di prodotti spot-on a base di selamectina o moxidectina/imidacloprid, ogni 15 giorni per tre volte.

L'amitraz si è rivelato efficace.

Nei cuccioli molto giovani si consiglia l'uso di fipronil spray 0,25%, alla dose di 3 ml/kg (Noli C e Toma S,(c) 2011).

3.4.3 L'allergia al morso di pulce

La dermatite allergica da pulci (DAP) è una reazione di ipersensibilità diretta verso una o più componenti della pulce, soprattutto agli allergeni della saliva.

Ctenocephalides felis felis è la specie che generalmente infesta sia cani che gatti (Millier MH et al., 2013).

E' un insetto di colore marrone scuro, privo di ali, con il corpo lucido e schiacciato lateralmente. Il terzo paio di arti è molto più lungo degli altri e dotato di una muscolatura molto complessa che gli permette di saltare sull'ospite (Taylor MA et al., 2010) (fig.3)



Fig.3 *Ctenocephalides felis felis* (Noli,(d) 2011

La malattia può comparire ad ogni età e in ogni razza. In genere, sono necessari 6 mesi di esposizione allergenica per produrre una risposta d'ipersensibilità, per cui è improbabile osservare la malattia in animali di età inferiore a 6 mesi.

Sembra inoltre che la malattia sia più comune in animali affetti contemporaneamente da dermatite atopica, per una probabile predisposizione immunologica a sviluppare allergie (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Il sintomo principale della malattia è il prurito, solitamente localizzato nel punto in cui ha morso la pulce, regione lombo-sacrale e avambracci, zone spesso risparmiate in corso di DA. Le lesioni dermatologiche iniziali sono rappresentate da papule eritematose per lo più localizzate sulla regione della groppa, sulla faccia ventrale dell'addome e sul profilo posteriore e mediale delle cosce. Il prurito è causa di escoriazione e alopecia, e un'elevata percentuale di cani viene portata a visita per la presenza improvvisa di lesioni focali da dermatite acuta umida. Nei casi cronici che si complicano con batteri e lieviti è possibile osservare pustole, croste, desquamazioni e dermatiti generalizzate con lichenificazione, iperpigmentazione, cute untuosa e cattivo odore.

La diagnosi è basata principalmente sull'anamnesi e aspetto clinico.

Dall'anamnesi si possono ricavare utili informazioni, quali: errori nella prevenzione dell'infestazione di pulci, presenza di animali non trattati, trattamenti infrequenti o incostanti. La presenza di prurito stagionale, per lo più in estate-autunno, è indicativa di allergia stagionale, e quindi alle pulci o allergeni di piante e alberi con impollinazione stagionale, sebbene il ciclo vitale della pulce, all'interno di appartamenti riscaldati, sia possibile tutto l'anno.

L'esame con nastro adesivo trasparente permette di raccogliere le deiezioni delle pulci, e raramente le loro uova, dopo spazzolamento del mantello.

Il materiale raccolto viene visionato al microscopio per la ricerca delle feci dei parassiti, identificabili con una particolare morfologia a virgola o a spirale e il loro colore rosso intenso legato al contenuto ematico.

Questo test è ritenuto più specifico del vecchio test della carta assorbente bagnata che, a contatto con il sangue delle feci, sviluppa un alone color ruggine indicativo del sangue disciolto; questo test però non differenzia il sangue delle feci di pulce da quello di una crosta ematica e pertanto può essere fuorviante (Abramo F et al.,(b) 2009).

La gestione terapeutica, prevede l'utilizzo di molecole attive sia sul parassita adulto che sulle forme immature. Tra gli adulticidi, formulati in spray, spot-on o compresse, ritroviamo il fipronil, il piriprolo, la selamectina, l'imidacloprid, il metaflumizone e il nitenpyram.

Il trattamento delle forme immature prevede l'uso di due categorie di prodotti, gli juvenoidi e gli inibitori della sintesi della chitina; i primi (metoprene e piriprossifene) inibiscono la trasformazione della larva in pupa; i secondi (lufenuron) agiscono invece impedendo l'uscita

della larva dall'uovo, poiché alterano la composizione della chitina inibendo la rottura del guscio.

In presenza di prurito è possibile somministrare corticosteroidi (prednisone 0,5-1 mg/kg sid) per qualche giorno (Abramo F et al.,(b) 2009).

3.4.4 Reazioni cutanee avverse al cibo

Per reazione avversa al cibo si intende una qualsiasi reazione cutanea, gastrointestinale o di un altro apparato all'ingestione di alimenti o additivi alimentari (Rossi N, Exclusion).

In questo gruppo si riconoscono due tipi di patogenesi:

- nel primo gruppo, ci sono malattie causate da reazione d'ipersensibilità (allergia) nei confronti dell'allergene (cibo o trofoallergene), chiamate *allergie alimentari* (Noli C e Toma S,(d) 2011) Possono essere IgE-mediate (tipo I) o non IgE-mediate (tipo III e IV) (Abramo F et al.,(b) 2009);
- nel secondo gruppo, il sistema immunitario non svolge alcun ruolo eziopatogenetico e queste malattie vengono denominate *intolleranze alimentari* (Noli C e Toma S,(d) 2011). Queste si distinguono in metaboliche (es. intolleranza al lattosio e al glutine), farmacologiche (es. ammine vasoattive o biogene come la metilxantina e le sostanze itamino-simili) e idiosincrasiche (es. additivi e coloranti) (Abramo F et al.,(b) 2009).

Queste reazioni non sono distinguibili clinicamente e possono coesistere (Rossi N, Exclusion).

Le allergie alimentari colpiscono cani di ogni età, sesso e razza; nonostante non ci sia una chiara predisposizione di razza, è stato notato che sono più comuni in soggetti giovani e anziani,

probabilmente per la presenza di fattori che alterano l'equilibrio intestinale, come parassiti, virus o tumori enterici.

Le allergie alimentari rappresentano il 10% dei casi nei cani affetti da prurito non stagionale e solo 1-2% dei casi dei cani affetti da dermatiti pruriginose.

Sebbene tutti i nutrienti contenuti nel cibo possono determinare una reazione allergica, in quanto componenti *non self*, cioè estranei all'organismo, sono solo pochi gli ingredienti riportati come causa di allergia alimentare. Si tratta soprattutto di glicoproteine contenute negli alimenti commerciali o nelle diete casalinghe. Il potenziale allergenico di questi ingredienti dipende dalle loro caratteristiche chimico-fisiche, dal loro peso molecolare (che varia da 8 a 70 kD), dalla capacità di attraversare intatti la barriera mucosale e, quindi, dalla loro solubilità e digeribilità.

Gli alimenti più comuni, responsabili di allergia alimentare nei piccoli animali, sono carne bovina, latticini, pollame e uova, soia, pesce, carne di maiale, carne di agnello, frumento, riso (Noli C e Toma S,(d) 2011), tacchino, mais (Rossi N, Exclusion) e mangimi umidi commerciali in scatola.

È anche comune che un animale colpito da allergia alimentare sia affetto al tempo stesso da un altro tipo di allergia. Questo è particolarmente vero nei cani affetti da dermatite atopica, nei quali i trofoallergeni possono comportarsi da fattori scatenanti l'allergia ambientale.

La parete intestinale è una vasta superficie che prende contatto con tutto ciò che viene introdotto dall'esterno e ha il compito di differenziare tra nutrienti innocui, che possono essere tollerati e assorbiti, e nutrienti potenzialmente dannosi, come parassiti, virus, batteri e sostanze tossiche, che devono essere combattuti e eliminati.

Il tessuto linfoide associato all'intestino (*Gut Associated Lymphoid Tissue*, GALT) svolge questo compito, avvalendosi di numerose cellule immunitarie sparse nella mucosa e organizzate in strutture come le placche del Peyer e i linfonodi.

Il GALT riesce a differenziare gli antigeni “buoni” (i nutrienti), per i quali sviluppa tolleranza immunologica, per soppressione di alcuni cloni di cellule T, dagli antigeni “cattivi”, contro i quali scatena una risposta immunitaria, per lo più mediata da IgA secretorie. Queste ultime vengono secrete dalle plasmacellule, trasportate nel lume intestinale dove legano gli antigeni impedendone il loro assorbimento.

Il fenomeno della tolleranza immunologica ad un antigene inizia nella cavità orale, in età perinatale, ed è indotto dall'esposizione progressiva a piccole quantità di nutrienti introdotti nella dieta durante lo svezzamento. Questo induce nell'organismo la soppressione di alcuni cloni di linfociti B, che non produrranno una risposta umorale nei confronti di queste sostanze. La tolleranza orale, perciò, non è innata e si sviluppa con l'individuo; sembra che si inizi a sviluppare già all'età di 4 settimane.

Se uno degli elementi che regolano il meccanismo di tolleranza/eliminazione è alterato, il sistema immunitario produce una vera e propria risposta immunologica nei confronti degli alimenti, che porta allo sviluppo di allergia alimentare.

Il tipo di allergia più studiato e diffuso è l'allergia alimentare IgE-mediata, o ipersensibilità alimentare immediata (tipo I). In assenza di tolleranza orale, il sistema immunitario produce IgE contro un allergene e queste aderiscono alle membrane dei mastociti presenti nella mucosa intestinale. Quando l'allergene responsabile entra in contatto con i mastociti sensibilizzati, lega una coppia di IgE presenti sulla superficie cellulare e induce il rilascio di istamina e altri mediatori vasoattivi, con aumento di produzione di fluidi e

muco, alterata peristalsi (che induce vomito e diarrea) e richiamo di altre cellule infiammatorie. I segni cutanei si manifestano quando l'allergene, a causa dell'alterata permeabilità della mucosa intestinale, entra nel circolo e raggiunge i mastociti cutanei, o per il rilascio dei mediatori infiammatori da parte dei mastociti intestinali nel circolo sanguigno.

Dopo il rilascio di istamina, i mastociti attivati possono rilasciare una serie di citochine e mediatori della flogosi, che richiamano in sede intestinale numerose cellule infiammatorie (per lo più eosinofili), causando una vera e propria infiltrazione della mucosa intestinale, una flogosi acuta (enterite eosinofila) e segni più ritardati, nell'arco di qualche ora (ipersensibilità intermedia).

Le reazioni d'ipersensibilità ritardata (tipo IV, cellulomediata, e tipo III, da deposizione di immunocomplessi) sono altrettanto possibili e responsabili di segni clinici dopo 24-72 ore dall'ingestione di cibo, ma purtroppo la loro patogenesi non è ad oggi del tutto chiara. Il segno clinico più comune che si manifesta nel cane è il prurito, costante, d'intensità variabile, che non subisce variazioni stagionali. Può essere generalizzato o localizzato a faccia, orecchie, zampe, inguine e area perianale (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Il prurito è spesso distribuito in maniera simile a quanto accade nella dermatite atopica (piede, orecchio, faccia, ascelle) e queste due patologie sono virtualmente indistinguibili clinicamente. Altre lesioni cutanee riscontrabili sono: papule, eritema, collaretti epidermici, pododermatite, seborrea e otite esterna (Millier WH et al., 2013).

Le lesioni da grattamento e leccamento e le conseguenti infezioni sono molto comuni: esse esitano in follicoliti batteriche ricorrenti, sovraccrescita batterica e dermatite da *Malassezia*.

I segni gastroenterici sono vari e poco specifici, spesso cronici e di lieve importanza, e includono vomito, dimagrimento, diarrea, dolore

addominale, defecazioni frequenti, meteorismo, borborigmi e flatulenze (Noli C e Toma S,(d)2011).

La diagnosi di allergia alimentare si effettua somministrando al paziente una dieta contenente ingredienti sconosciuti al suo sistema immunitario, per minimo 8 settimane: se si ottiene una riduzione del prurito, è poi necessario confermare la diagnosi provocando la comparsa dei sintomi mediante somministrazione della dieta precedente.

La dieta a eliminazione può essere scelta tra quelle presenti sul commercio o può essere formulata per una preparazione domestica; in entrambi i casi la dieta ideale dovrebbe contenere un'unica fonte di carboidrati e un'unica fonte di proteine, senza additivi o supplementi di altro genere.

Il paziente che segue una dieta a eliminazione non può avere accesso a nessun altro tipo di cibo. Se sono presenti altri animali in casa, ogni animale deve avere la sua ciotola e/o gli animali devono mangiare in luoghi separati oppure tutti gli animali devono seguire la dieta scelta per il paziente allergico.

Al termine dei due mesi di dieta ipoallergenica, i possibili risultati sono miglioramento del prurito parziale, totale o nullo. Se il prurito non è migliorato affatto si può escludere l'allergia alimentare e orientarsi verso altre patologie causa di prurito, come la dermatite atopica.

Se c'è stato un miglioramento parziale o totale del prurito, la mossa successiva è quella di reintrodurre la vecchia dieta per alcuni giorni e osservare la variazione del prurito nel paziente dopo una settimana. Se il paziente non subisce nessun peggioramento dopo essere stato alimentato con la vecchia dieta, il miglioramento clinico ottenuto nei due mesi di dieta ad eliminazione non è attribuibile alla

dieta stessa, bensì ad altri fattori, come riduzione degli allergeni ambientali o assenza di infezioni cutanee.

Se il paziente ha ottenuto un miglioramento totale nei due mesi di dieta ad eliminazione e ricade dopo l'introduzione della vecchia alimentazione, allora l'animale si può dichiarare affetto da allergia alimentare e dovrà essere nuovamente alimentato con la dieta ad eliminazione sino a remissione dei sintomi indotti dalla provocazione.

Infine, se il prurito del paziente è solo parzialmente migliorato durante la dieta ad eliminazione e peggiorato dopo somministrazione della vecchia alimentazione, allora l'allergia alimentare deve essere considerata responsabile di una componente solo minore del prurito del paziente e altre malattie dovranno essere indagate per ottenere totale remissione.

Da alcuni anni sono in commercio alcune diete a base di idrosilati, caratterizzate da idrolisi chimica delle sostanze nutritive contenute (proteine e/o carboidrati), che acquistano così peso molecolare medio minore di 3-10 kD (Royal Canin Hypoallergenic, Purina HA, Hill's ZD). L'allergene, ridotto in dimensione, non è più capace di legare le IgE presenti sulla superficie dei mastociti sensibilizzati e, quindi, di indurre degranulazione mastocitaria e conseguente cascata infiammatoria, che provoca la manifestazione dei sintomi. Purtroppo però queste diete presentano alcuni svantaggi: il costo, poiché il processo di preparazione è estremamente dispendioso; l'appetibilità, che è minore delle altre diete ipoallergeniche; il peso molecolare, nonostante sia dichiarato inferiore alla soglia di riconoscimento da parte del sistema immunitario, in alcuni cibi persistono comunque molecole di peso maggiore, capaci di causare una risposta immunitaria. Inoltre, studi recenti hanno dimostrato che le proteine, se pur idrolisate, hanno ancora la capacità di legare

i recettori mastocitari e indurre, se pur in maniera minore, degranulazione dei mastociti e comparsa dei sintomi.

La terapia dell'allergia alimentare è basata sull'uso di una dieta di mantenimento, completa e bilanciata, che non contenga gli ingredienti responsabili dell'ipersensibilità, se identificati.

L'uso degli steroidi sistemici, per il controllo delle fasi acute o per il controllo dei sintomi insorti dopo ingestione accidentale di cibo responsabile di allergie, fornisce buoni risultati solo nel 50% dei pazienti. Se l'allergia si manifesta con orticaria, come in rari casi d'ipersensibilità immediata di tipo I, si possono utilizzare farmaci antistaminici come terapia e prevenzione.

Recentemente, è stato anche proposto l'uso di ciclosporina alla dose di 5mg/kg/die (Noli C e Toma S,(d) 2011).

3.4.5 Dermatite da contatto

La dermatite da contatto è una reazione cutanea di natura infiammatoria causata dal contatto diretto con un agente offensivo.

La malattia si divide in due tipi: la dermatite da contatto per irritazione primaria e la dermatite da contatto allergica.

La dermatite da contatto per irritazione primaria causa infiammazione cutanea in tutti i cani esposti, senza bisogno di una reazione allergica. Alcuni agenti irritanti primari, come il sapone, i detersivi, le polveri insetticide, gli acidi e le basi forti sono fattori etiologici potenziali (Millier WH et al., 2013). La dermatite da contatto allergica, invece, è una reazione allergica ritardata, cellulomediata, di tipo IV, nei confronti di allergeni ambientali, detti apteni, penetrati per via transcutanea. Per aptene si intende qualsiasi sostanza capace di reagire con un anticorpo specifico, ma non di stimolarne la produzione: si tratta di un antigene di peso molecolare inferiore a 10 kD, che, come tale, è incapace di indurre

una risposta immunitaria umorale o cellulare. Alcuni apteni hanno però la capacità di legare peptidi endogeni, diventando così antigeni completi, di dimensioni tali da indurre una risposta immunitaria allergica. Nell'allergia da contatto questa risposta immunitaria è caratterizzata dall'induzione di linfociti T memoria aptene-specifici, che si distribuiscono ai tessuti per via ematica. Quando l'aptene viene in contatto con tali linfociti sensibilizzati, vengono rilasciati una serie di citochine e fattori chemiotattici (IL-1, IL-2, TNF- α), che reclutano un gran numero di cellule infiammatorie (tra cui linfociti e neutrofili), migranti dai vasi sanguigni al sito di esposizione allergenica. In questa area, in particolare nel derma, si forma una papula, lesione primaria in corso di allergia da contatto.

La sensibilizzazione all'aptene in corso di allergia da contatto richiede tempi molto lunghi (da 6 mesi a 2 anni) (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Esempi di apteni responsabili dell'allergia sono: materiali sintetici, quali plastica (della ciotola), tessuti (coperta nella cuccia,tappeti), collari, detersivi, prodotti per la toelettatura, farmaci ad uso topico (farmaci topici otologici, antiparassitari esterni) (Noli C e Ghibaud G, 2009) e alcune piante (*Toxicodendron radicans*, *Tradescantia fluminensis* e quelle appartenenti alla famiglia *Commelinaceae*) (Noli C e Toma S,(d) 2011).

La lesione primaria in corso di allergia da contatto è la papula; queste possono essere confluenti, circondate da eritema, ed evolvere in pustole o piccole erosioni.

La distribuzione delle lesioni interessa il muso, la faccia interna del padiglione auricolare, ma non il canale auricolare, la faccia ventrale di mani, piedi, carpo e tarso, gli spazi interdigitali ventrali, l'area perianale, l'addome, l'inguine, lo scroto tutte le aree prive di pelo e a contatto con il terreno, la cuccia o con oggetti particolari. Il prurito è sempre presente e di notevole intensità.

La diagnosi è clinica, per mezzo dell'aspetto delle lesioni e della loro localizzazione, e viene confermata con l'eliminazione della causa scatenante.

Si può emettere una diagnosi definitiva con il patch test. Il patch test si effettua applicando cerrotti impregnati della sostanza che si vuole testare direttamente su un'area di cute tosata, in genere sul torace, e apponendo un bendaggio occlusivo per due giorni. Se il test è positivo si potranno evidenziare eritema, dermatite papulare o piccole erosioni nel punto di contatto con il cerotto.

La terapia prevede l'individuazione e l'eliminazione della causa scatenante l'allergia.

Farmacologicamente si può utilizzare prednisone (0,5-1 mg/kg bid) per controllare le fasi acute della malattia, insieme agli steroidi per uso topico.

Infine, la pentossifillina (10-15 mg/kg tid) può essere usata come controllo a lungo termine e prevenzione, poiché scevra degli effetti collaterali degli steroidi. La pentossifillina è un inibitore selettivo della sintesi di TNF- α , capace di ridurre il reclutamento delle cellule infiammatorie dopo esposizione allergenica. La sua efficacia è minore di quella degli steroidi, poiché non sopprime la risposta infiammatoria completamente, ma le manifestazioni, se pur presenti, sono di entità minore. Il farmaco deve essere somministrato a stomaco pieno, in quanto induce facilmente vomito, ed è sicuro anche per terapie di lunga durata (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Capitolo 4. Approccio terapeutico

A causa dell'eziologia multifattoriale e alle variazioni soggettive, non esiste un protocollo unico utilizzabile per tutti i pazienti affetti da dermatite atopica.

È molto importante far capire al proprietario, che per questa malattia, geneticamente determinata, non esiste una cura definitiva e, che quindi, accompagnerà l'animale per tutta la sua vita.

Le misure terapeutiche sono quindi destinate ad alleviare le manifestazioni cliniche della malattia, quali il prurito, le sovrainfezioni batteriche e a prevenirne le esacerbazioni, restituendo al paziente una qualità di vita dignitosa.

Un approccio terapeutico adeguato dovrà considerare:

- ✓ riduzione dell'esposizione allergenica
- ✓ shampoo-terapia
- ✓ trattamento sintomatico con antinfiammatori steroidei e non
- ✓ ripristino della barriera cutanea con acidi grassi essenziali
- ✓ desensibilizzazione agli allergeni (immunoterapia)

4.1 Riduzione dell'esposizione allergenica

Questa misura risulta impraticabile per i pollini, che sono sospesi nell'aria e possono viaggiare per lunghe distanze, ma è fattibile per altri tipi di allergeni.

In caso di allergia alle muffe si possono attuare una serie di misure per eliminarle dall'ambiente in cui vive l'animale.

In caso di ipersensibilità alle pulci o altri insetti, un controllo efficace potrà essere eseguito con prodotti per l'ambiente e per il soggetto in esame.

Se il paziente è allergico agli acari della polvere di casa, si può provare a ridurre la carica ambientale, oltre che cambiare alcune abitudini del cane.

Si consiglia, per esempio, l'utilizzo di aspirapolveri con filtri studiati per questi problemi e impiego di spray in grado di denaturare gli allergeni degli acari della polvere (benzoil-benzoato).

Tappeti, cuscini, materassi e divani sono i maggiori serbatoi per questi acari e il paziente dovrebbe evitare di soggiornare o dormire in stanze particolarmente difficili da pulire o ricche di tali arredi, soprattutto la camera da letto.

Qualsiasi tipo di allergene coinvolto, i bagni frequenti, anche con semplice acqua tiepida, riescono ad eliminare buona parte degli allergeni presenti sulla cute del paziente.

Nel caso il paziente sia sensibile agli acari delle derrate alimentari, che vivono per lo più nei mangimi secchi, è consigliabile utilizzare un cibo umido o cotto in casa; se si sospetta che la dieta del paziente possa contribuire anche in minima parte alle manifestazioni cliniche, si consiglia l'uso di diete ipoallergeniche, che possono essere di valido aiuto in pazienti con forme allergiche miste ambientali e da cibo (Noli C e Toma S,(d) 2011).

4.2 La shampoo-terapia

La terapia topica è molto indicata in dermatologia, poiché il trattamento è eseguito direttamente sul tessuto interessato dalla malattia.

Il termine “topico” deriva dal greco “topos”, che significa luogo.

Nonostante l'uso della terapia topica in medicina veterinaria non sia diffuso come in medicina umana per la presenza del mantello e per l'abitudine degli animali rimuovere attraverso il leccamento qualunque sostanza sia applicata, tra le varie formulazioni

disponibili in commercio per la terapia topica la shampoo-terapia è sicuramente la più adatta per l'uso negli animali.

La shampoo-terapia è l'opzione terapeutica ideale qualora le lesioni siano multiple o coinvolgano l'intera superficie corporea (Miller WH et al., 2012).

La shampoo-terapia presenta numerosi vantaggi: è (quasi sempre) facile da eseguire, può sostituire in molti casi la somministrazione sistemica di farmaci e gli effetti collaterali si osservano raramente; inoltre, i costi sono notevolmente inferiori rispetto ai comuni farmaci.

Gli svantaggi sono pochi: è possibile osservare occasionalmente irritazione cutanea e prurito o, molto più raramente, reazioni cutanee avverse più gravi (eritroderma pustoloso dello Schnauzer nano) ed è una modalità terapeutica impegnativa per il proprietario.

Gli shampoo presenti in commercio contengono spesso agenti idratanti e per limitare la secchezza la cute e il mantello: questo ne consente un uso anche molto frequente, a patto che vengano sempre utilizzati prodotti registrati per uso veterinario (il pH della cute degli animali è differente da quello degli esseri umani). Esistono inoltre in commercio balsami dopo-shampoo ad uso veterinario che riducono l'elettrostaticità del pelo e spesso contengono oli, acidi grassi che rendono il mantello più lucido e/o principi attivi medicati che rimangono a contatto con la cute, dal momento che il balsamo generalmente non richiede risciacquo.

La shampoo-terapia rimuove detriti, sporczia, microrganismi e allergeni dalla superficie cutanea, idrata la cute e il mantello, aiuta a controllare l'odore e il prurito e contribuisce a migliorare le condizioni della barriera cutanea nei soggetti allergici.

Gli shampoo-medicati contengono principi attivi adatti per specifiche indicazioni cliniche: esistono infatti shampoo ad attività antimicrobica, antiparassitaria, antiseborroica, antipruriginosa ed

emolliente/idratante (Miller WH et al., 2012; Curtis C, 1998; Guaguere E, 1996; Jeffers JG, 2013).

MODALITA' DI ESECUZIONE DELLA SHAMPOO-TERAPIA:

Fare il bagno a un cane può risultare difficile e, in alcuni casi, impossibile.

Ogni volta che si prescrive una shampoo-terapia, è necessario dedicare alcuni minuti a illustrare le modalità di esecuzione del trattamento al proprietario.

I passaggi sono i seguenti:

1. Bagnare accuratamente il mantello dell'animale, dopo averlo posto nella vasca da bagno o in un apposito contenitore con tappetino antiscivolo sul fondo.

2. Applicare lo shampoo, cominciando dalle parti del corpo più interessate dalla malattia. Si consiglia di diluire la quantità di shampoo necessaria in 5-10 parti di acqua prima di applicarlo sul mantello.

3. Distribuire lo shampoo su tutta la superficie corporea, avendo cura di evitare di massaggiare la cute dell'animale contro la direzione di crescita del pelo nei soggetti a pelo corto, per prevenire l'insorgenza di follicoliti; nei soggetti a pelo lungo, "strizzare" il pelo dopo l'applicazione dello shampoo può aiutare a evitare la formazione dei nodi.

4. Il tempo di contatto dello shampoo è variabile secondo il prodotto utilizzato, anche se, per la maggior parte degli shampoo medicati, si consiglia un tempo di contatto pari a 10 minuti. Il tempo di contatto comincia quando l'animale è completamente insaponato e può essere consigliabile utilizzare un timer.

5. Risciacquare accuratamente l'animale fino a quando il prodotto applicato è stato completamente rimosso.

6. Asciugare il mantello con un asciugamani (Miller WH et al., 2012; Curtis C, 1998). Si sconsiglia l'uso del *phone*, poiché in corso di patologie cutanee associate ad eritema e prurito, ne aumentale le manifestazioni cliniche.

PRINCIPI ATTIVI CONTENUTI NEGLI SHAMPOO MEDICATI

Antimicrobici

I principi attivi antimicrobici (o germicidi), si distinguono in antisettici, che sono utilizzati sui tessuti viventi, e disinfettanti, da applicare su oggetti inanimati. Gli antisettici sono utilizzati in medicina veterinaria come antibatterici e antifungini.

La terapia antibatterica topica è di grande interesse sia in medicina umana che veterinaria, per il recente incremento della resistenza dei batteri agli antibiotici somministrati per via sistemica. *Staphilococcus pseudintermedius* è il batterio più comunemente isolato nelle piodermiti canine e può sviluppare meticillino-resistenza (MRSP) e multiresistenza (resistenza a tre diverse classi di antibiotici oltre alla meticillina). Dal momento che è essenziale ridurre l'uso degli antibiotici sistemici per cercare di limitare lo sviluppo di resistenze, la terapia topica, sia con antibiotici ad uso locale, come la mupirocina e l'acido fusidico, che con shampoo o soluzioni contenenti antisettici, trova oggi sempre maggiore applicazione (Jeffers JG, 2013; Bond R e Loeffler A, 2012).

I principi attivi antibatterici più comunemente contenuti negli shampoo medicati ad uso veterinario sono la clorexidina, l'etil-lattato e il benzoil-perossido (Guaguere E, 1996; Jeffers JG, 2013)

Una revisione sistematica sulla terapia topica per le infezioni batteriche cutanee pubblicata recentemente ha fortemente raccomandato l'uso della clorexidina e, con minore evidenza di efficacia, del benzoil-perossido (Muller RS et al., 2012).

I principi attivi antibatterici citati sono stati valutati in numerosi studi, sia in *vitro* sia in *vivo*: è però importante ricordare che gli studi in *vitro* possono fornire risultati differenti da quelli in *vivo*, in quanto la presenza di essudato può alterare l'efficacia del prodotto testato. Per quanto concerne gli studi in *vitro*, in genere confermano l'efficacia in ordine decrescente della clorexidina al 2-4%, del benzoil-perossido al 2,5% e dell'etil-lattato al 10% sia nei confronti di *Staphilococcus pseudintermedius* meticillino-sensibile (MSSP) che meticillino-resistente (MRSP) (Odore R et al., 2000; Young R, 2012; Murayama N et al., 2013).

Uno studio in *vitro* molto recente ha valutato l'efficacia di un altro principio attivo antisettico, il triclosan, che si è dimostrato più attivo della clorexidina digluconato (Valentine BK et al., 2012).

Un altro studio in *vitro* ha valutato l'attività antibatterica residua del pelo dei cani trattati con diversi shampoo antibatterici, dimostrando che gli shampoo contenenti clorexidina al 2-3% sono in grado di inibire la crescita di *Staphilococcus pseudintermedius* fino a 7 giorni dopo l'uso (Kloos I et al., 2013).

La clorexidina è un antisettico biguanidico che interagisce con i fosfolipidi che compongono la membrana cellulare batterica aumentandone la permeabilità e determinando così la precipitazione delle proteine citoplasmatiche (Jeffers JG, 2013; Maynard L et al., 2011).

La clorexidina è in genere ben tollerata, ha un'attività persistente sulla cute, agisce in sinergia con il miconazolo in *vitro* e non è inattivata dalla presenza di materiale organico (Guaguere E, 1996; Jeffers JG, 2013; Odore R et al., 2000; Maynard L et al., 2011).

Viene generalmente utilizzata a concentrazioni comprese tra 0,8% e 4%, ed è efficace contro la maggior parte dei batteri e alcuni funghi, se si rispetta il tempo di contatto consigliato di dieci minuti (Lloyd DH e Lamport A, 1999; Lloyd DH e Lamport A, 2000).

Gli effetti collaterali sono poco frequenti e si limitano ad esfoliazione cutanea e prurito, che si risolvono spontaneamente in alcuni giorni (Maynard L et al., 2011).

Alcuni recenti studi in vivo hanno dimostrato che la clorexidina è efficace sia come gluconato che come acetato e che una concentrazione del 2% è sufficiente per risolvere la maggior parte dei casi di piodermite superficiale nel cane (Murayama N et al., 2010).

Il benzoil-perossido è un agente ossidante: la molecola è composta da due gruppi benzoilici collegati tra loro da perossido e il suo meccanismo d'azione nei confronti dei microrganismi si basa sulla capacità di alterare la membrana cellulare batterica. E' molto sgrassante e cheratolitico (Guaguere E, 1996; Jeffers JG, 2013; Scott DW et al, 1994) e, se utilizzato a giorni alterni alla concentrazione del 2,5% ha attività profilattica nei confronti dei batteri per una durata di 48 ore (Kwochka KW et al., 1991).

Due lavori recenti hanno comparato uno shampoo contenente benzoil-perossido al 2,5% ad uno shampoo contenente clorexidina al 3% per la terapia della sovracrescita batterica cutanea (Viaud S et al., 2012) e della piodermite superficiale nel cane senza l'associazione di antibiotici sistemici (Loeffler A et al., 2011). Nel primo studio l'efficacia dei due prodotti è risultata assolutamente sovrapponibile, mentre nel secondo studio la clorexidina si è dimostrata più efficace del benzoil-perossido. Il benzoil-perossido è irritante nel 10% circa dei soggetti, secca molto la cute e tende a schiarire il colore del mantello e a macchiare i tessuti (Miller WH et al., 2012; Guaguere E, 1996).

L'etil-lattato, solitamente utilizzato alla concentrazione del 10%, viene idrolizzato sulla cute ad acido lattico ed etanolo ed è efficace contro i batteri mediante l'abbassamento del pH cutaneo. È estremamente liposolubile e diffonde con facilità attraverso gli strati

dell'epidermide, i follicoli piliferi e le ghiandole sebacee (Guaguere E, 1996; Jeffers JG, 2013).

In due studi piuttosto datati, uno shampoo contenente etil-lattato al 10% è risultato efficace nella terapia delle piodermiti di superficie e superficiali del cane, sia come unico trattamento che in associazione con un antibiotico sistemico (Ascher F et al., 1990; De Jaham C, 2003).

In uno studio più recente, invece, l'etil-lattato al 10% utilizzato due volte alla settimana si è dimostrato meno efficace della clorexidina al 2% (Nagata M et al., 2006).

Un altro principio attivo antibatterico, il triclosan, è stato valutato in *vivo* in formulazione shampoo con concentrazione pari allo 0,5% (associato a zolfo 2% e acido salicilico 2%), dimostrando una buona attività profilattica nei confronti degli stafilococchi (Kwochka KW et al., 1991); più recentemente, in uno studio in *vitro*, il triclosan è risultato eccellente nei confronti di MSSP e MRSP (Valentine BK et al., 2012).

Infine, uno shampoo contenente polioxanide all'1% è stato comparato ad uno shampoo contenente clorexidina gluconato al 4,5% con risultati sovrapponibili (Banovic F et al., 2013).

Le infezioni cutanee giocano un ruolo particolarmente importante nella patogenesi della dermatite atopica: stimolano il sistema immunitario a una risposta d'ipersensibilità, mascherano la vera sintomatologia della malattia stessa, contribuiscono come fattori scatenanti il prurito e sono causa di danno cronico alle strutture cutanee, alterandone la barriera.

Per questi motivi, è fondamentale non solo trattare le infezioni quando presenti, ma prevenirne in ogni modo la ricaduta.

A questo scopo, si possono utilizzare molecole disinfettanti, in formulazioni topiche sottoforma di shampoo o lozioni da applicare

sulle aree più predisposte allo sviluppo di infezioni, compresi i dotti auricolari.

Qualunque sia la molecola scelta, la somministrazione di questi prodotti dovrà essere abbastanza frequente da assicurare la prevenzione delle ricadute delle infezioni (per esempio, uno shampoo 2 volte alla settimana).

Nei casi più difficili, si rendono necessari anche trattamenti giornalieri per il resto della vita del paziente (Noli C e Toma S,(d) 2011).

I principi attivi antifungini più comunemente utilizzati negli shampoo ad uso veterinario sono il miconazolo, altri derivati azolici (econazolo, in Italia) e la clorexidina. Una revisione sistematica di recente pubblicazione ha raccomandato l'uso bisettimanale di uno shampoo contenente miconazolo al 2% e clorexidina al 2% per il trattamento della dermatite da *Malassezia* nel cane (Negre A et al., 2008); la stessa associazione era stata consigliata in un articolo di revisione più datato per la terapia della dermatofitosi, in combinazione con il trattamento per via sistemica (Moriello K, 2004). Il meccanismo d'azione del miconazolo si basa sull'inibizione della sintesi dell'ergosterolo, un componente molto importante della membrana cellulare dei funghi: ha anche attività antibatterica nei confronti dei Gram+ (Pietschmann S et al, 2013) e la sinergia d'azione del miconazolo con la clorexidina è stata dimostrata *in vitro* (Perrins N e Bond R, 2003).

Un recente lavoro ha comparato l'efficacia di uno shampoo contenente miconazolo e clorexidina, entrambi al 2%, con uno shampoo contenente clorexidina al 3%: entrambi i prodotti si sono rivelati efficaci nel trattamento della dermatite da *Malassezia* del cane (Maynard L et al., 2011).

La clorexidina come singolo principio attivo è efficace contro *Malassezia* spp. In *vitro* a concentrazioni comprese tra 3 e 4% e

richiede 10 minuti di tempo di contatto (Lloyd DH e Lamport A, 1999; Lloyd DH e Lamport A, 2000).

Per la prevenzione della dermatite da *Malassezia* in cani particolarmente predisposti, si consiglia la terapia pulsata con itraconazolo (2-3 somministrazioni alla settimana) per periodi anche molto lunghi (mesi o anni) (Noli C e Toma S,(e) 2011).

Antiparassitari

Gli shampoo antiparassitari hanno attualmente poche applicazioni in medicina veterinaria, dal momento che sono disponibili in commercio prodotti che garantiscono una protezione contro i parassiti esterni di maggiore durata e in formulazioni più semplici da utilizzare.

La maggior parte degli shampoo antiparassitari tuttora presenti sul mercato contengono piretrine e piretroidi (tossici per il gatto) e possono essere utilizzati per rimuovere pulci ed altri parassiti di superficie da cuccioli o da animali debilitati (Curtis C, 1998) oppure, se applicati settimanalmente fino a risoluzione, per trattare le infestazioni da *Cheyletiella* spp (Curtis CF, 2004). Uno studio pubblicato nel 1999 ha dimostrato l'efficacia di uno shampoo contenente deltametrina allo 0,07%, applicato una volta alla settimana, contro le infestazioni da pulci e da zecche nel cane (Franc M e Cadiergues MC, 1999).

Antiseborroici

I principi attivi antiseborroici più comunemente inclusi negli shampoo medicati ad uso veterinario sono l'acido salicilico, lo zolfo e il benzoil-perossido a cui si è recentemente aggiunto lo zinco gluconato.

Questi principi attivi hanno proprietà cheratinolitiche e/o cheratoplastiche, cioè aumentano l'esfoliazione (proprietà

cheratinolitica) e/o hanno attività citostatica sulle cellule dello strato basale dell'epidermide (proprietà cheratoplastica). Trovano indicazione nelle malattie primarie della corneificazione e nelle seborree secondarie e sono spesso formulati in associazione a principi attivi emollienti e/o idratanti.

Lo zolfo è cheratinolitico o cheratoplastico a seconda della concentrazione; è molto sgrassante, antibatterico, antifungino ed ha attività sinergica con l'acido salicilico.

Può seccare eccessivamente o irritare la pelle e ha un odore molto sgradevole.

L'acido salicilico è cheratolitico, riduce il pH cutaneo e ammorbidisce lo strato corneo aumentandone il grado di idratazione (Miller WH et al., 2012; Rosenkrantz W, 2006).

Lo zinco gluconato è antiseborroico ed antimicrobico e, formulato come shampoo in associazione ad acido salicilico, vitamina B6, acido linoleico e gamma-linoleico, piroctone olamina e olio di “*tea tree*”, è risultato altrettanto efficace di uno shampoo al catrame (Reme C, 2005).

Un secondo prodotto contenente zinco gluconato al 2%, zolfo colloidale allo 0,25%, clorexidina digluconato allo 0,3%, acido salicilico al 2% e lanolina al 2% si è dimostrato attivo in *vitro* nei confronti di *Malassezia* spp. E stafilococchi (Guardabassi L, ICF Bulletin).

Antipruriginosi

Gli shampoo e i balsami dopo-shampoo ad attività antipruriginosa possono contenere avena colloidale, glucocorticoidi (idrocortisone 1%, fluocinolone 0,01%, budesonide 0,025%), antistaminici (difenidramina 2%) o anestetici locali (pramoxina 1%): ma gli shampoo contenenti glucocorticoidi, antistaminici e anestetici locali non sono in commercio in Italia.

Secondo le linee guida per il trattamento della dermatite atopica canina del 2010, non esiste al momento attuale alcuna evidenza dell'efficacia degli shampoo contenenti avena colloidale, pramoxina, difenidramina, lipidi o glucocorticoidi. Ciò nonostante, la shampoo-terapia è considerata dalla maggior parte degli autori utile nella gestione terapeutica del paziente allergico (Olivry T e Bizikova P, 2013).

L'avena colloidale è un prodotto naturale ottenuto dall'omonimo cereale (*Avena sativa*), dotato di proprietà idratanti, detergenti, antistaminiche ed antinfiammatorie. L'attività antistaminica ed antinfiammatoria è dovuta alle avenantramidi, sostanze contenute nell'avena in grado di inibire il rilascio di citochine proinfiammatorie e di istamina (Cerio R et al., 2010).

Purtroppo, non esistono studi clinici sull'efficacia dell'avena colloidale nelle malattie pruriginose in medicina veterinaria.

I glucocorticoidi possono alleviare temporaneamente il prurito, ma purtroppo l'uso prolungato di questi shampoo non è privo di effetti collaterali (Beale KM et al., 2000; Thomas RC et al., 1999); i prodotti contenenti glucocorticoidi possono inoltre alterare i risultati del test d'intradermoreazione per le allergie di origine ambientale (Rivierre C et al., 2000).

Il prodotto più recentemente commercializzato è un balsamo “*leave-on*”, da non risciacquare, non grasso, contenente budesonide allo 0,025% e disponibile in Australia. In uno studio controllato con placebo, questo balsamo, applicato settimanalmente, ha indotto un significativo miglioramento delle lesioni, del prurito e della qualità della vita di cani con dermatite atopica ed è risultato molto ben tollerato (Ahlstrom LA et al., 2010).

Uno shampoo antipruriginoso contenente clorexidina, lattoferrina, piroctone olamina, chitosan ed acidi grassi essenziali è stato recentemente testato contro uno shampoo placebo senza che fosse

rilevata alcuna differenza tra i due gruppi di trattamento (Schilling J e Mueller RS, 2012).

Un altro shampoo ad attività antipruriginosa contenente monosaccaridi, ceramidi, acidi grassi essenziali e piroctone olamina è stato valutato in cani con prurito, con l'uso idromassaggio o senza e comparato all'idromassaggio con sola acqua. I risultati ottenuti sono stati significativamente migliori nei due gruppi di pazienti trattati con lo shampoo (Loflath A et al., 2007).

La shampoo-terapia applicata con frequenza regolare nei cani affetti da dermatite atopica risulta essere quindi di beneficio, indipendentemente dal principio attivo utilizzato, in quanto rimuove gli allergeni che vengono a contatto con la cute. Un altro interessante studio pilota ha valutato l'efficacia della shampoo-terapia con lo stesso prodotto del precedente lavoro e con acqua demineralizzata (ultrapure soft water) rispetto alla shampoo-terapia con acqua del rubinetto in un gruppo di cani con prurito. L'acqua demineralizzata è ottenuta mediante la rimozione di ioni calcio e magnesio e la loro sostituzione con ioni sodio. I risultati dello studio suggeriscono che la shampoo-terapia con acqua demineralizzata promuove la ricostituzione della barriera cutanea e può rappresentare un'ulteriore opzione terapeutica per il prurito nel cane (Ohmori K et al., 2010).

Emollienti/idratanti

I principi attivi emollienti lubrificano ed ammorbidiscono la pelle, mentre i principi attivi idratanti idratano lo strato corneo aumentando la quantità d'acqua in esso contenuta. I più comuni principi attivi emollienti/idratanti sono l'urea, la glicerina, il glicole propilenico, l'acido lattico, la chitosanide, gli acidi grassi e i ceramidi (Miller WH et al., 2012; Curtis C, 1998).

Non esistono studi pubblicati riguardanti l'efficacia dei principi attivi emollienti/idratanti in formulazione shampoo in medicina veterinaria. Alcuni prodotti contenenti acidi grassi o ceramidi, in formulazione spot-on o emulsione, si sono rivelati promettenti per il ripristino della barriera cutanea nei cani affetti da dermatite atopica (Tretter S e Mueller RS, 2011; Piekutowska A et al., 2008).

Inoltre, è stato dimostrato che nei soggetti a pelo lungo albergano un maggior numero di antigeni sulla cute rispetto a soggetti a pelo corto. Quindi, tosando il pelo si ha una diminuzione della quantità di antigeni a livello cutaneo e di conseguenza minori fattori scatenanti le manifestazioni cliniche della dermatite atopica (Bloom P, 2013).

4.3 Antinfiammatori steroidei topici e sistemici

Gli steroidi sono da sempre considerati la panacea di tutte le allergie, per il potere antinfiammatorio e immunosoppressivo legato a queste molecole.

Somministrabili per via sistemica o topica, con costo limitato, gli steroidi possono essere utilizzati per il trattamento della dermatite atopica per brevi periodi, a causa degli effetti collaterali legati all'uso prolungato.

Spesso, alla loro sospensione i sintomi clinici recidivano con intensità maggiore, forse per i danni causati alla barriera cutanea: gli steroidi, infatti, sono capaci di assottigliare lo spessore della cute e indurre atrofia degli annessi e minore produzione di sebo (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Glucocorticoidi topici

I glucocorticoidi topici rappresentano una frequente scelta terapeutica nel trattamento di lesioni pruriginose. Essi sono divisi in 7 classi, che vanno dalla classe I/alta potenza alla classe VII/ bassa

potenza. Gli steroidi più potenti sono nella classe I e quelli meno potenti nella classe VII (Buys LM, 2007).

Il modo più rapido ed efficace per ottenere risultati positivi con gli steroidi ad uso topico, è quello di iniziare con uno dei più potenti e quando si notano miglioramenti clinici: o si sospende totalmente l'applicazione o si passa ad uno steroide con minore potenza.

Gli steroidi per uso topico sono presenti in diverse formulazioni: lozioni, creme, pomate, unguenti, shampoo, spray.

I diesteri, nuova classe di glucocorticoidi, sono composti lipofili che rapidamente penetrano lo strato corneo e vengono metabolizzati direttamente a livello cutaneo dopo la loro applicazione (Carlotti DN, 2009). Fra questi ricordiamo l'idrocortisone aceponato allo 0,0584% (Cortavance spray®), presente in formulazione spray, utilizzato per la riduzione delle lesioni cutanee e del prurito in soggetti atopici (Olivry T et al., 2010).

Questo tipo di intervento è particolarmente adatto per lesioni cutanee localizzate (Bryden SL et al., 2008) e per cicli di breve durata.

L'idrocortisone è uno steroide piuttosto debole ma, grazie alla particolare doppia esterificazione, la sua efficacia è potenziata e circoscritta alla cute, con scarso assorbimento sistemico (Noli C e Toma S,(d) 2011).

La frequenza e la durata delle applicazioni vanno modificate in base alla gravità dei segni clinici (Nuttall T et al., 2009).

I più frequenti e i più importanti effetti collaterali in seguito a prolungate applicazioni di un potente glucocorticoide topico su una stessa area sono assottigliamento della cute (atrofia cutanea), formazioni di comedoni e cisti follicolari superficiali (Gross TL et al., 1997; Kimura T e Doi K, 1999;).

Nonostante il rischio di atrofia cutanea appaia ridotto con i nuovi glucocorticoidi diesteri tipo l'idrocortisone aceponato (Cortavance

spray®), come dimostrato in un RCT della durata di 70 giorni (Nuttall T et al., 2009), studi sperimentali con questa formulazione hanno dimostrato che questo effetto collaterale può manifestarsi (Bizikova P et al., 2010 21) o meno (Rème CA e Dufour P, 2008). Tuttavia, a causa di questo effetto atrofizzante, i glucocorticoidi topici possono essere indicati temporaneamente per indurre un assottigliamento di lesioni croniche lichenificate.

Uno studio ha confrontato l'efficacia dell'idrocortisone aceponato 0,0584% e della ciclosporina, per il controllo delle manifestazioni cliniche della dermatite atopica, per un periodo di 84 giorni.

L'idrocortisone aceponato è stato somministrato a un gruppo di pazienti, una volta al giorno, nelle aree lesionate, ad una distanza di 10 cm alla dose di due spray/100 cm².

La ciclosporina invece è stata somministrata ad un secondo gruppo di cani alla dose di 5mg/kg per via orale, una volta al giorno.

In conclusione, questo studio ha dimostrato che l'idrocortisone aceponato e la ciclosporina sono ugualmente efficaci nel trattamento della dermatite atopica canina fino a 84 giorni.

Entrambe le terapie sono ben tollerate e la maggior parte dei cani di entrambi i gruppi ha ottenuto oltre il 50% della diminuzione del prurito e delle lesioni cutanee (Nuttall TJ et al., 2011).

Glucocorticoidi sistemici

Se i segni clinici di DA sono troppo gravi o estesi per essere controllati con formulazioni ad uso topico, si rende necessario l'uso di glucocorticoidi ad uso orale (prednisone, prednisolone, metilprednisolone). L'inizio dell'efficacia clinica si manifesta più rapidamente con gli steroidi, nell'arco di poche ore dalla somministrazione, che con la ciclosporina i cui effetti compaiono dalle 2 alle 4 settimane.

Per il controllo del prurito acuto associato a DA, si preferisce l'uso di prednisone alla dose di 0,5-1 mg/kg una volta al giorno per 5-7

giorni, seguito dalla somministrazione di 0,25-0,5 mg/kg ogni 48-72 ore, fino a quando l'allergia non sia tenuta sotto controllo con altri trattamenti (Noli C e Toma S,(d) 2011).

L'azione principale dei glucocorticoidi è quella antinfiammatoria e immunomodulatrice che rende tali sostanze i composti terapeutici di elezione per una vastissima gamma di condizioni patologiche. Agiscono virtualmente su tutti i tipi di cellule dei mammiferi, portando a diversi effetti:

- Sistema cardiovascolare: riducono la permeabilità capillare ed incrementano la vasocostrizione.

- Cellula: inibiscono la produzione di fibroblasti, la risposta dei macrofagi al fattore inibente la migrazione dei macrofagi (MIF), la sensibilizzazione dei linfociti e la risposta cellulare ai mediatori della flogosi. Stabilizzano le membrane lisosomiali.

- SNC/ Sistema Nervoso Autonomo: abbassano la soglia di eccitabilità, alterano i comportamenti, riducono la risposta ai pirogeni, stimolano l'appetito.

- Sistema endocrino: sopprimono il rilascio di ACTH, riducono quello di TSH, FSH, PRL, LH, riducono la conversione di T4 a T3. Aumentano la produzione di PTH e inibiscono l'attività osteoblastica. Riducono la secrezione neuroipofisaria e l'attività dell'ADH sui tubuli renali, inibiscono il legame dell'insulina con il recettore cellulare e dei suoi effetti post-recettoriali.

- Sistema emopoietico: aumentano il numero di piastrine circolanti, di neutrofili e di eritrociti e inibiscono l'aggregazione piastrinica. Riducono i linfociti periferici, gli eosinofili (sequestro polmonare e splenico, riduzione del rilascio dal midollo osseo) e l'emocateresi. Causano involuzione del tessuto linfoide.

- Sistema immunitario: riducono i linfociti T circolanti, inibiscono le linfocine, la migrazione dei neutrofili, macrofagi e monociti; riducono la produzione di interferone, la fagocitosi, la

chemiotassi e la preparazione dell'antigene. La risposta immunitaria specifica è interessata meno di quella aspecifica. Possono inoltre antagonizzare la cascata del complemento e mascherare i segni clinici di un'infezione. Sopprimono la sintesi di istamina e riducono il numero dei mastociti.

- Sistema gastroenterico/fegato: incrementano la secrezione di acido cloridrico, pepsina e tripsina. Alterano la struttura della mucina e diminuiscono la proliferazione delle cellule mucosali. Riducono l'assorbimento di ferro e calcio e aumentano quello dei grassi. Aumentano l'accumulo di glicogeno e grasso negli epatociti, aumentano l'alanino-aminotransferasi (ALT), la gamma-glutamyl transpeptidasi (GGT), la fosfatasi alcalina (ALP) e la lipasi.

- Effetti metabolici: stimolano la gluconeogenesi, la lipogenesi in certe aree del corpo (addome). Ridistribuiscono il tessuto adiposo dalle estremità al tronco. Mobilizzano gli acidi grassi dai tessuti e aumentano la loro ossidazione. Aumentano i livelli plasmatici di trigliceridi e colesterolo. Mobilizzano le proteine da quasi tutti i distretti dell'organismo (tranne il fegato). Inducono iperglicemia e insulino-resistenza. Le somministrazioni croniche possono indurre diabete mellito

- Apparato muscolo-scheletrico: causano debolezza muscolare, atrofia, osteoporosi. L'inibizione del GH, della somatomedina, dell'attivazione della vitamina D e l'aumento dell'escrezione urinaria di calcio contribuiscono ad alterare la crescita del tessuto osseo. Viene inibita anche la crescita delle fibrocartilagini.

- Occhio: l'uso prolungato di glucocorticoidi può causare un aumento della pressione endoculare, glaucoma, cataratta ed esoftalmo.

- Rene/fluidi/elettroliti: aumentano l'escrezione di potassio e calcio, e il riassorbimento di sodio e cloro. Nel cane spesso si assiste ad un aumento della diuresi.
- Cute: assottigliamento del derma, atrofia cutanea, distensione dei follicoli piliferi ed alopecia (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

I glucocorticoidi sono rapidamente assorbiti dopo la somministrazione orale, IM, SC (tranne le forme di deposito).

Circolano legate alle proteine plasmatiche in percentuale proporzionale alla polarità delle diverse molecole. La quota libera è quella che determina gli effetti farmacologici intracellulari. Vengono coniugati in sede epatica (glucoronazione e solfatazione) ed eliminati per via urinaria e biliare. Il cortisone e il prednisone sono dei pro-farmaci in quanto necessitano di una conversione, a livello epatico, nelle forme attive di idrocortisone (cortisolo) e prednisolone. L'organismo metabolizza con maggiore difficoltà gli steroidi sintetici come il prednisolone e il desametasone i cui effetti pertanto sono più intensi e durano più a lungo (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Gli effetti collaterali sono in genere correlati a somministrazioni prolungate nel tempo, specie ad alti dosaggi e senza rispetto dei ritmi circadiani del cortisolo. Gli effetti collaterali normalmente si manifestano con i sintomi dell'iperadrenocorticismo (Cushing iatrogeno). Qualora vengono somministrati a soggetti giovani, possono ritardarne la crescita. Nei cani poliuria, polidipsia, polifagia si possono osservare sia nelle terapie di breve durata sia nel mantenimento a giorni alterni durante la somministrazione del farmaco. Oltre questi tre effetti sovracitati, altri effetti collaterali nel cane possono includere: ritardo mentale, secchezza del mantello, incrementi ponderali, affanno, vomito, diarrea, aumento degli enzimi epatici, ulcere gastro-intestinali, iperlipidemia, l'induzione o il

peggioramento del diabete mellito e modificazioni comportamentali (depressione, letargia). In questi casi è consigliabile sospendere la terapia o modificare il tipo di steroidi impiegato (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Sfortunatamente, alcuni soggetti con AD sono “corticosteroido-dipendenti”. In questo caso si può usare un'associazione di un antistaminico e un glucocorticoide (Millier WH et al., 2013).

Ad esempio, uno studio crossover precoce ha riportato che la combinazione dell'antistaminico trimeprazine e di prednisolone ha una maggiore efficacia anti prurito rispetto al trimeprazine o al prednisolone somministrati singolarmente (Paradis M et al., 1991).

Un altro studio retrospettivo ha comparato l'efficacia di tre farmaci, un glucocorticoide (prednisolone) e due antistaminici (Dexchlorpheniramine e Oxatomide) somministrati singolarmente o associati fra loro per controllare il prurito nel soggetto atopico.

I soggetti sono stati trattati per un mese, o con una combinazione di antistaminici: oxatomide (2mg/kg/die) più dexchlorpheniramine (0,5 mg/kg/die), o con prednisolone (0,5-1 mg/kg a giorni alterni) o con la combinazione di tutti e tre farmaci.

L'utilizzo di antistaminici con prednisolone, rispetto al solo prednisolone, ha permesso di controllare meglio il prurito e ha consentito una riduzione del dosaggio medio del corticosteroide usato (0,68 mg/kg rispetto a 0,84 mg/kg).

In modo simile, un altro studio ha dimostrato che la somministrazione giornaliera di un acido grasso essenziale, permette di ridurre la dose di prednisolone necessaria per il controllo del prurito in cani con dermatite atopica (Saevik BK et al., 2004).

Infine, un ultimo studio ha dimostrato che supplementi di erbe cinesi (Phytopica) permettono una riduzione statisticamente significativa della dose di metilprednisolone necessaria al

trattamento di cani con DA da moderata a grave (Schmidt V et al., 2010).

Un'altra associazione possibile per il controllo del prurito nei cani atopici è tra il prednisolone e la ciclosporina. Da uno studio recente è emerso che la loro associazione può accelerare la riduzione del prurito.

Ad un gruppo di cani è stata somministrata la ciclosporina (5mg/kg per via orale, una volta al giorno per 28 giorni) da sola o con concomitante prednisolone (1 mg/kg una volta al giorno per 7 giorni, poi a giorni alterni fino al giorno 14).

Al termine dello studio è stato evidenziato che nei cani con dermatite atopica, una iniziale e breve somministrazione di prednisolone accelera l'efficacia degli effetti della ciclosporina nel ridurre il prurito ed i segni associati (Dip R et al., 2013).

4.4 Antinfiammatori non steroidei

Nella scelta terapeutica del soggetto atopico, oltre ai comuni cortisonici, rientrano altri tipi di farmaci, con effetti antinfiammatori ma non di tipo steroideo.

Tra questi rientrano gli antistaminici, gli inibitori della calcineurina (tacrolimus e ciclosporina) e altri antinfiammatori non steroidei meno utilizzati.

4.4.1 Antistaminici

La grande famiglia degli antistaminici è stata utilizzata per decenni nella gestione del prurito di soggetti allergici.

Introdotti nel 1940, gli antistaminici sono oggi i farmaci più utilizzati negli esseri umani (Simon FER, 1988).

Sebbene gli antistaminici siano spesso utilizzati nel trattamento della DA umana, non vi è evidenza oggettiva che dimostri il controllo del prurito (Klein PA e Clark RA, 1999).

Questi farmaci esercitano i loro effetti su diversi tessuti, attraverso il loro antagonismo per i recettori dell'istamina, in particolare H1 e H2. I recettori H1 sono localizzati sui vasi sanguigni, nella muscolatura liscia dell'apparato respiratorio e del tratto gastrointestinale, nel cuore e nel sistema nervoso centrale; sono associati agli effetti indotti dall'istamina quali prurito, dolore e aumento della permeabilità vascolare.

Organi con recettori H2 includono la muscolatura gastrica, l'utero, il cuore e il sistema nervoso centrale; qui gli effetti dell'istamina includono un aumento della secrezione di acido gastrico e aumento della permeabilità vascolare.

L'attivazione dei recettori H2 può anche indurre modificazioni immunologiche come alterazione delle risposte proliferative linfocitarie, della sintesi di anticorpi e chemiotassi (Rocklin RE, 1990).

Il principale meccanismo d'azione delle molecole utilizzate per il trattamento delle allergie cutanee nell'uomo è l'antagonismo per i recettori H1 dell'istamina, e quindi l'interferenza col prurito mediato dall'istamina ed eventi vascolari.

Altre azioni anti-allergiche includono l'inibizione del rilascio dei mediatori infiammatori da parte di mastociti e basofili (Lippert U et al., 1995), diminuita migrazione cellulare (Varney V et al, 1996) e diminuita espressione di molecole di adesione (Ciprandi G et al., 1996).

Si ritiene che i farmaci antistaminici studiati ed usati in umana, abbiano azione simile nei cani, anche se questo non è provato.

In medicina veterinaria sono disponibili numerose molecole utilizzate per il controllo del prurito associato ad allergie:

- Difenidramina cloridrato
- Idrossizina cloridrato
- Clorfeniramina maleato
- Clemastina fumarato
- Trimepralina tartrato

(Noli C e Toma S,(d) 2011).

Gli antistaminici dovrebbero essere somministrati come farmaci a scopo preventivo, e questo significa ogni singolo giorno alla dose raccomandata, per mantenere i recettori H1 in uno stato inattivo prima che l'istamina sia rilasciata durante reazioni allergiche immediate (Olivry T et al., 2010).

Ogni antistaminico, prima di valutarne l'efficacia, deve essere somministrato per almeno due settimane (Bloom P, 2013).

Nonostante gli antistaminici, quando somministrati come unico farmaco, non appaiono efficaci, è stato riportato che una combinazione degli antistaminici di tipo H1 idrossizina e clorfeniramina maleato risultino di beneficio clinico in cani con DA (Ewert G e Daems T, 2001).

E' stato visto che gli antistaminici danno maggiore risposta in soggetti allergici con lieve prurito e con lesioni recenti. Mentre in presenza di lesioni croniche c'è minore risposta agli antistaminici. Sembrano funzionare meglio se somministrati a scopo profilattico e nelle prime fasi della malattia (Olivry T et al., 2010).

Tutti gli studi effettuati sugli antistaminici non sono controllati e quindi rispetto a questi vige un certo scetticismo.

Un primo studio sostiene che oltre il 60% di 30 cani con AD presentavano una parziale riduzione dei segni clinici con l'uso di antistaminici; tra le diverse molecole usate l'idrossizina si è rivelata la più efficace (Patterson S, 1994).

In un altro studio, il 22% dei cani il prurito è stato sufficientemente controllato con uno di questi antistaminici: clorfeniramina, difenidramina, idrossizina (Scott DW e Buerger RG, 1988).

La clemastina è un antistaminico H1, utilizzata per quasi vent'anni, tuttavia è stato dimostrato che non è biodisponibile e che perde di effetto dopo l'utilizzo per via orale nel cane (Hansson H et al., 2004).

E' stato anche dimostrato che l'efficacia clinica del trattamento antistaminico può essere migliorata se questi farmaci vengono utilizzati in combinazione con altri agenti antiprurito non steroidei, come gli acidi grassi (EFA) (Paradis M et al., 1991).

In genere gli antistaminici sono farmaci ben tollerati e con lievi effetti collaterali.

Altri effetti avversi possono essere: tremore, atassia, iperestesia, scialorrea, aumento del prurito, polipnea, eccitazione.

Risultati di studi clinici suggeriscono che alcuni antistaminici di tipo H1 possono, come effetto collaterale indurre sedazione nei cani con DA (Olivry T et al., 2010)

Questo effetto collaterale potrebbe essere responsabile del modesto beneficio osservato per questa classe di farmaci in alcuni cani con DA, e potrebbe essere particolarmente utile in cani con prurito associato a disturbi del sonno (Nuttall T e McEwan N, 2006; Plant JD, 2008).

In uno studio, tuttavia, è stato dimostrato che la difenidramina ha un potenziale di sedazione limitato nei cani (Hofmeister EH e Egger CM, 2005).

4.4.2 Inibitori della calcineurina

I farmaci antiallergici appartenenti alla famiglia degli inibitori della calcineurina sono la Ciclosporina e il Tacrolimus (la prima per uso sistemico, il secondo per uso topico).

Questi farmaci agiscono prevalentemente sui linfociti inibendo la produzione di numerose citochine infiammatorie, per cui agiscono nelle fasi croniche della malattia (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Nonostante sia stato dimostrato che l'applicazione due volte al giorno dell'unguento contenente tacrolimus allo 0,1% sia risultato efficace nella riduzione delle lesioni cutanee e del prurito nei cani affetti da DA localizzata (Bensignor E e Olivry T, 2005), il lento effetto iniziale e la lieve irritazione iniziale osservata dopo l'applicazione rende questo intervento poco adatto a trattare le fasi acute della DA. Anche la ciclosporina, a causa del suo ritardo nell'effetto terapeutico, non è adatta per il controllo della fasi acute della DA (Olivry T et al., 2010).

Ciclosporina: La ciclosporina A (CsA) è un immunosoppressore selettivo e svolge un'attività antinfiammatoria e antipruritica nel trattamento delle manifestazioni croniche della dermatite atopica canina; anche approvato per le dermatiti allergiche del gatto (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Si tratta di un farmaco originariamente sviluppato per prevenire il rigetto del trapianto.

La ciclosporina è stata ampiamente valutata per il trattamento della DA canina, trovandola estremamente efficace come il prednisolone e il metilprednisolone, rappresentando quindi una valida alternativa ai cortisonici (Miller WH et al., 2013).

Inibisce in modo preferenziale l'attivazione da stimolazione dei linfociti T, alterando la produzione di IL-2 e di altre citochine derivate dalle cellule T. La ciclosporina è in grado, inoltre, di inibire

la funzione di presentazione dell'antigene a livello del sistema immunitario cutaneo. Allo stesso modo blocca il reclutamento e l'attivazione degli eosinofili, la produzione di citochine da parte dei cheratinociti, le funzioni delle cellule di Langherans, la degranulazione dei mastociti e quindi il rilascio di istamina e citochine pro-infiammatorie. La ciclosporina non deprime l'emopoiesi e non ha effetto sulla funzione dei fagociti. La biodisponibilità della ciclosporina è del 35% maggiore se somministrata a digiuno piuttosto che con il pasto. Il picco plasmatico è raggiunto entro 1-2 ore. Nel cane il volume di distribuzione è circa 7,8 l/kg. La ciclosporina è ampiamente distribuita in tutti i tessuti, compresa la cute, nella quale raggiunge concentrazioni maggiori rispetto a quelle ematiche. E' metabolizzata principalmente nel fegato dal citocromo P450 (CYP 3A 4) per idrossilazione e demetilazione; i metaboliti hanno poca o nessuna attività. Circa il 25% della ciclosporina in circolo, nelle prime 24 ore dopo la somministrazione, è in forma immodificata. L'eliminazione avviene principalmente con le feci, solo il 10% è escreto con le urine, per la maggior parte sottoforma di metaboliti. Nessun bioaccumulo è stato osservato nel sangue di cani trattati per un anno (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Un vantaggio nell'usare la ciclosporina nei soggetti atopici è la possibilità di poter effettuare in concomitanza i test intradermici. In precedenza si raccomandava di interrompere la somministrazione del farmaco 4 settimane prima del test intradermico.

Tuttavia, un recente studio con placebo ha valutato due gruppi di cani: un gruppo riceveva ciclosporina (5 mg/kg sid) e un gruppo il placebo. Al termine dei 30 giorni non vi è stato alcun effetto immediato sulla reattività del test intradermico nel gruppo trattato con ciclosporina. (Miller WH et al., 2013)

FORMULAZIONI

Negli esseri umani, CsA è stata sviluppata come una formulazione di

olio vegetale (Sandimmune; Novartis Pharmaceuticals) il cui assorbimento è fortemente dipendente dall'escrezione biliare (Guaguère E et al., 2004). Più recentemente è stata prodotta dalla CsA una microemulsione, ME, (Neoral, Novartis Pharmaceutical®) che migliora la biodisponibilità orale, diminuisce la variabilità individuale nell'assorbimento e diminuisce l'effetto della secrezione biliare sull'assorbimento (Guaguère E et al., 2004). Negli esseri umani la biodisponibilità della forma ME di CsA è del 30-40% rispetto al 20-30% della formulazione non modificata (Choc ML, 1997).

Nei cani la forma ME ha una biodisponibilità del 35% rispetto al 20-25% della formulazione di olio vegetale (Guaguère E et al., 2004; Gridelli B et al., 1986). In medicina veterinaria CsA modificato (Atopica, Novartis Animal Health) è approvato per il trattamento della dermatite atopica nel cane; questo prodotto è disponibile in morbide capsule da 10mg, 25mg, 50mg, 100mg (Atopica, 2007). Nel gatto la forma modificata di CsA (Atopica per gatti, Novartis Animal Health) è stata recentemente approvata per il trattamento della dermatite allergica; questo prodotto è disponibile come soluzione orale con una concentrazione di 100 mg/ mL (Atopica for cats, 2011).

Attualmente sul mercato la ciclosporina è presente in compresse ai seguenti dosaggi:

- ✓ 25mg di ciclosporina (Atoplus® 25)
- ✓ 50mg di ciclosporina (Atoplus® 50)
- ✓ 100mg di ciclosporina (Atoplus® 100)

La posologia prevede la somministrazione di 5mg/kg di ciclosporina secondo il seguente schema: una volta al giorno fino ad ottenere un miglioramento clinico soddisfacente, che si verifica in genere dopo 4 settimane. Se non si ottiene risposta entro le prime 8 settimane il

trattamento dovrà essere sospeso. In seguito, come dose di mantenimento, può essere somministrato a giorni alterni. Ottenuto un controllo soddisfacente dei segni clinici di dermatite atopica, il farmaco può essere somministrato ogni 3-4 giorni. Successivamente la frequenza di somministrazione potrà essere adattata alla risposta clinica ottenuta. Il trattamento può essere sospeso quando i segni clinici sono sotto controllo. Alla ricomparsa dei segni clinici il trattamento dovrà essere ripreso a somministrazioni giornaliere. In alcuni casi potranno essere necessari cicli ripetuti di trattamento.

La sicurezza del farmaco non è stata studiata nei cani maschi riproduttori, nelle cagne in gravidanza e in lattazione. La ciclosporina passa la barriera placentare ed è escreta col latte, pertanto il trattamento delle femmine in lattazione non è raccomandato. (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

E' consigliato non somministrare la ciclosporina in presenza di: diabete mellito; neoplasie maligne; vaccinazioni; altri farmaci immunosoppressivi; pazienti con meno di 6 mesi; pazienti con peso inferiore a 1,8kg.

MECCANISMO D'AZIONE

La Csa, inibitore della calcineurina, è un immunosoppressore che inibisce l'attivazione delle cellule T (Marsella R, 2005). Si lega alla proteina intracellulare *cyclophilin-1*; il complesso cyclophilin-CsA inibisce la calcineurina, impedendo la defosforilazione/attivazione nucleare del fattore attivante le cellule T (NFAT) (Guaguère E et al., 2004) NFAT aiuta a regolare la produzione di diverse importanti citochine pro-infiammatorie, tra cui l'interleuchina (IL)-2, IL-4, interferone (IFN) gamma e il fattore di necrosi tumorale (TNF) alfa (Taylor AL et al, 2005). L'inibizione dell'IL-2, un potente promotore e attivatore delle cellule T, è considerato il principale meccanismo di immunosoppressione (Taylor AL et al., 2005; Shibasaki F et al., 2002). CsA colpisce diverse cellule della pelle: cellule T, cellule

dendritiche, cellule di Langherans, cheratinociti, mastociti, eosinofili (Guaguère E et al., 2004; Marsella R e Olivry T, 2001).

Compromette la capacità delle cellule dendritiche di stimolare la proliferazione delle cellule T, diminuisce il numero e l'attività delle cellule di Langherans nell'epidermide, diminuisce la secrezione di citochine da parte dei cheratinociti, diminuisce le funzioni dei mastociti ed eosinofili (Marsella R e Olivry T, 2001; Al-Dajari WI et al., 2002).

Inibisce la sopravvivenza degli eosinofili, la secrezione di citochine e il reclutamento degli eosinofili ai siti infiammatori (Marsella R e Olivry T, 2001; Al-Dajari WI et al., 2002).

Inibisce anche la sopravvivenza dei mastociti, la loro risposta secretoria, il rilascio di istamina e la produzione di prostaglandine e citochine (Al-Dajari WI et al., 2002; Matsuda S e Koyasu S, 2000).

CsA ha anche dimostrato di inibire la proliferazione dei cheratinociti, la sintesi di prostaglandine E-2 e la produzione di chemochine (CXC chemochine KC e CCL2). Capace di ridurre notevolmente la produzione di IFN gamma. Tutte queste caratteristiche contribuiscono all'azione antinfiammatoria e immunomodulante della CsA (Baumer W e Kietzmann M, 2007).

FARMACOCINETICA

La biodisponibilità orale della CsA nei cani e nei gatti, è bassa e altamente variabile (Guaguère E et al., 2004). La bassa biodisponibilità della ciclosporina può essere spiegata per l'elevato peso molecolare del farmaco, per la sua bassa solubilità in acqua, per l'effetto della P-glicoproteina pompa di efflusso a livello intestinale e per il metabolismo del citocromo P450 situato nella mucosa intestinale e nel fegato (Wacher VJ et al., 1998; Robson DC e Burton GG, 2003).

Nei cani, la CsA orale viene rapidamente assorbita ed ha una biodisponibilità variabile, dal 23% al 45% (Plumb DC, 2008).

Si raccomanda la sua somministrazione due ore prima o due ore dopo il pasto, poiché la sua biodisponibilità si riduce ulteriormente se somministrata col pasto (Steffan J et al, 2004).

Nonostante l'alimentazione abbia un evidente effetto sulla biodisponibilità orale della CsA, uno studio su piccola scala ha dimostrato che la somministrazione di ciclosporina col pasto non ha influenzato la risposta clinica nei cani (Thelen A et al., 2006).

Nel gatto, uno studio di farmacocinetica non ha mostrato alcuna differenza nel grado di assorbimento del farmaco se somministrato col cibo o a stomaco vuoto (Atopica for cats, 2011).

Essendo una molecola lipofila, la CsA si distribuisce ampiamente nei tessuti, raggiungendo nell'epidermide e nel derma una concentrazione 10 volte superiore a quella del sangue (Ellis CN et al., 1991). CsA viene metabolizzata principalmente dal citocromo P450, in particolare CYP3A4, presente nel fegato e nel piccolo intestino. P-glicoproteina è anche associata con l'escrezione di CsA, agendo come una pompa di efflusso-farmaco che trasporta attivamente la ciclosporina indietro nel lume intestinale (Hebert MF, 1997). Il citocromo P450 è coinvolto sia nel metabolismo epatico che nel metabolismo intestinale (Whalen RD et al., 1999). Circa il 50% del metabolismo della CsA orale può essere attribuito al metabolismo intestinale (Hebert MF, 1997). L'eliminazione è prevalentemente biliare con una minima secrezione renale in tutte le specie (Venkataramanan R et al., 1988). Quando viene applicato a livello cutaneo, la CsA ha una scarsa capacità di penetrazione, nonostante sia lipido-solubile; presumibilmente questo è legato al suo elevato peso molecolare (Guaguère E et al., 2004; Lauerma Al et al., 1997).

Uno studio ha evidenziato che l'utilizzo di CsA cutanea non permette al farmaco di raggiungere concentrazioni ematiche considerate terapeutiche (solo 1 gatto su 6) (Miller A et al., 2011).

MONITORAGGIO

I metodi più comunemente utilizzati per monitorare i livelli ematici di ciclosporina sono: - cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) - polarizzazione immunodosaggio fluorescente (FPIA) - radioimmunologia (RIA) (Guaguère E et al, 2004). HPLC richiede tempo e non è conveniente per la pratica di routine. RIA e FPIA possono reagire con i metaboliti della ciclosporina con conseguente concentrazione ematica più elevata rispetto all'HPLC (Guaguère E et al., 2004; Steffan et al., 2004).

E' stato evidenziato che nei cani, i livelli ematici di CsA usando FPIA erano da 1.5 a 1.7 volte superiori rispetto all'utilizzo di HPLC (Steffan J et al., 2004). Uno studio che ha valutato gli effetti farmacodinamici della CsA, ha concluso che la funzione delle cellule T è soppressa a concentrazioni di farmaco nel sangue superiori a 600 ng/ml, ed è almeno parzialmente soppressa in alcuni casi a basso dosaggio (Fellman CL et al., 2011). L'interpretazione dei livelli di Csa per il trattamento della dermatite atopica è di difficile attuazione poiché ci sono pochi dati che correlano le risposte cliniche positive coi livelli ematici di ciclosporina. Ecco perchè attualmente il metodo più affidabile per valutare l'efficacia della terapia con CsA è la valutazione della risposta alla terapia. Il veterinario generalmente esegue solo i livelli minimi di CsA se c'è una mancanza di risposta clinica (prima di aumentare la dose) o se vi è una preoccupazione per la tossicità o un esagerato assorbimento. Nei gatti, studi sul campo dimostrano che i livelli ematici di ciclosporina sono molto variabili, anche tra pazienti con risposta clinica simile, suggerendo che le correlazioni potrebbero non essere generalizzate tra i gatti per quanto riguarda i livelli di CsA nel sangue e la risposta clinica (Atopica for cats, 2011).

INTERAZIONI FARMACOLOGICHE

Sono state descritte numerose interazioni tra CsA e altri farmaci, soprattutto causate dalle vie metaboliche comuni che coinvolgono:

- il citocromo P450 (CYP3A4): inibitori e induttori
- P-glicoproteina

Citocromo P450

I farmaci che inibiscono il citocromo P450 riducono la clearance epatica della ciclosporina, con conseguente aumento dei suoi livelli sierici; mentre i farmaci induttori l'attività del citocromo P450 possono ridurre le concentrazioni ematiche della CsA (Steffan J et al., 2004).

I più comuni farmaci veterinari che interagiscono con la ciclosporina sono:

Antimicotici azolici sono comunemente utilizzati in dermatologia veterinaria per aumentare i livelli sierici di ciclosporina e risparmiare sulle spese accessorie. Il ketoconazolo è il rappresentante più comunemente usato a questo scopo. Esso inibisce il CYP3A4, risultando in un aumento dei livelli ematici di CsA. Inibisce anche la P-glicoproteina con conseguente diminuzione dei trasporti di CsA nel lume intestinale e maggiore biodisponibilità. A seconda della dose di Ketoconazolo somministrata, la dose totale di CsA può essere ridotta fino al 75-90% nei cani (Dahlinger J et al., 1998; Mouatt JG, 2002). L'entità dell'interazione Ketoconazolo-ciclosporina è variabile e non prevedibile (Guaguère E et al., 2004); per questo motivo il medico veterinario utilizza una dose iniziale di ketoconazolo da 5 a 10 mg/kg una volta al giorno combinato a 2,5 mg/kg di CsA una volta al giorno. Il fluconazolo invece è un inibitore epatico del citocromo P450, ma non ha alcun effetto sulla P-glicoproteina (Sakaeda T et al., 2005). Esso migliora significativamente la biodisponibilità orale

della ciclosporina ed aumenta la sua concentrazione nel sangue (Katayama M et al., 2008).

Da uno studio eseguito su beagle sani e su cani rene-trapiantati: somministrata in un primo momento la CsA per via orale, due volte al giorno per portare i suoi livelli sierici tra i 400 e i 600 ng/ml; dopo l'aggiunta di fluconazolo (5 mg/kg una volta al giorno), il dosaggio di CsA è stato aggiustato al fine di mantenere nel sangue la sua concentrazione terapeutica. Sia nei cani rene-trapiantati che nei cani normali, il fluconazolo ha notevolmente diminuito il dosaggio della ciclosporina. Il migliore risultato è stato ottenuto nei cani normali in cui il dosaggio della CsA è stato ridotto dal 29% al 51% rispetto al dosaggio iniziale (Katayama M et al., 2010).

Metoclopramide

La metoclopramide (0,3-0,5 mg/kg) non ha alcun effetto sui parametri farmacocinetici della ciclosporina; ma viene impiegata in associazione con la CsA per prevenire eventuali effetti collaterali (Radwanski NE et al., 2011).

Cimetidina

E' un potente inibitore degli enzimi microsomiali epatici. Nei cani può ritardare (ma non diminuire) l'assorbimento di CsA somministrata per via orale, senza alterarne la sua farmacocinetica (Daigle JC et al., 2001).

Succo di pompelmo

Nell'uomo e nella specie canina è emerso che il succo di pompelmo somministrato prima della somministrazione orale di CsA ne aumenta la sua la sua biodisponibilità intestinale aumentando la concentrazione ematica dal 45% al 62% (Ducharme MP et al, 1995; Ku YM et al., 1998).

Il succo di pompelmo contiene furanocumarini, inibitori intestinali (ma non epatici) dell'enzima CYP3A4 (Amatori FM et al., 2004; Schmiedlin-Ren P et al., 1997; Fukunaga K e Orito K, 2011).

Erba di San Giovanni (iperico) E' una pianta nota per indurre il citocromo P450 diminuendo così la concentrazione sierica di CsA (Schmiedlin-Ren P et al., 1997).

P-glicoproteina

la ciclosporina è un substrato e un inibitore del trasportatore P-glicoproteina MDR1, pertanto la somministrazione contemporanea di ciclosporina e di substrati della P-glicoproteina, quali i lattoni macrociclici (ivermectina, milbemicina), potrebbe diminuire l'efflusso di tali farmaci dalle cellule della barriera emato-encefalica, esitando essenzialmente in segni di tossicità del SNC (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

EFFETTI COLLATERALI

Gli effetti indesiderati più frequentemente osservati sono i disturbi gastrointestinali quali vomito, diarrea e anoressia. Si tratta generalmente di sintomi transitori che normalmente non richiedono la sospensione del trattamento (Febbo E e Vezzoni A, 2014). Per contribuire ad alleviare i disturbi gastrointestinali, il medico veterinario può consigliare al proprietario di congelare una capsula di CsA dai 30 ai 60 minuti prima della somministrazione raccomandandone la somministrazione con una piccola quantità di cibo. Se questo accorgimento non migliora il vomito, può essere impiegata metoclopramide 30-60 minuti prima della somministrazione di CsA. Un altro farmaco utile per ridurre gli effetti collaterali è il maropitant citrato (Cerenia®). Buoni risultati si sono ottenuti anche con integratori ricchi in fibre, come la zucca in scatola e probiotici, in cani con diarrea o feci molli. Mentre Zinco-carnosina e vitamina E(Gastricalm®)non hanno migliorato gli effetti gastrointestinali secondari all'assunzione di CsA (Wilson LS et al.,). Esistono altre reazioni avverse al farmaco, molto più rare delle

precedenti, che possono manifestarsi con un sovradosaggio della CsA 4 volte oltre la dose media raccomandata per periodi di tre mesi e oltre, ed includono: iperplasia gengivale da lieve a moderata, lesioni cutanee verruciformi, alterazioni del mantello, arrossamento ed edema della pinna, ipercheratosi della pinna, lesioni simil-callose dei cuscinetti plantari, perdita di peso o ridotto incremento ponderale, ipertricosi, aumentata velocità di eritrosedimentazione, riduzione degli eosinofili, debolezza o crampi muscolari., poliuria e polidipsia, tremori e convulsioni, alterazioni comportamentali (letargia, iperattività, nervosismo, irrequietezza, irritabilità), prurito dopo la somministrazione, linfadenomegalia, neoplasie (istiocitoma, linfoma, mastocitoma) e Nocardiosi. Questi effetti si risolvono spontaneamente dopo la sospensione del trattamento. Non esiste un antidoto specifico e in caso di sovradosaggio deve essere instaurata una terapia sintomatica. Diversi studi condotti nell'umana specie hanno dimostrato che la CsA ha effetti nefrotossici, ipertensivi ed epatotossici; studi di sicurezza condotti sui cani non hanno segnalato questi tre effetti collaterali (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

ALTERAZIONI CLINICO-PATOLOGICHE

Le alterazioni clinico-patologiche sono riportate nel 25% dei pazienti trattati con CsA a lungo termine (Radowicz SN e Power HT, 2005). Le principali modificazioni includono una maggiore fosfatasi alcalina, alanina aminotransferasi, gamma-glutamyl transpeptidasi, aspartato aminotransferasi, creatinina (7,8%), iperglobulinemia (6,4%), iperfosfatemia (5,3%), iperproteinemia (3,4%), ipercolesterolemia (2,6%), ipoalbuminemia (2,3%), ipocalcemia (2,3%), aumento di azotemia (2,3%), ipernatriemia, iperkaliemia e ipercloremia.

PRECAUZIONI

La sicurezza e l'efficacia della ciclosporina in cani di meno di 6 mesi o di peso inferiore a 1,8 kg è sconosciuta (Atopica, 2007). Il farmaco è controindicato in pazienti con una storia di patologia maligna, in

cani da riproduzione, in stato di gravidanza o in lattazione e in caso di ipersensibilità alla ciclosporina o a uno degli eccipienti. L'uso concomitante di CsA con glucocorticoidi a lungo termine deve essere evitato per prevenire lo sviluppo di gravi infezioni opportunistiche (Olivry T et al., 2010). La CsA ha un evidente effetto disturbante il metabolismo del glucosio, ecco perchè non va impiegato in soggetti diabetici.

Si raccomanda l'uso di vaccini inattivi nei pazienti trattati con CsA.

ALTRI IMPIEGHI DELLA CsA: la principale indicazione della ciclosporina in dermatologia veterinaria è per il trattamento della dermatite atopica, al dosaggio di 5mg/kg una volta al giorno dalla 4 alle 6 settimane (Atopica, 2007). Ma è stata impiegata anche nel trattamento di diverse dermatosi infiammatorie e malattie immuno-mediate del cane e del gatto, come ad esempio: fistola perianale (Mouatt JG, 2002; Mathews KA e Sukhiani HR, 1997), adenite sebacea (Noli C e Toma S, 2006; Lortz J et al., 2010), pemfigo fogliaceo ed eritematoso (Rosenkrantz WS et al., 1989; Maeda H et al., 2008), cellulite giovanile (Park C et al., 2010), lupus erythematosus (Font A et al., 2006), eritema multiforme (Guaguère E et al., 2004; Robson DC e Burton GG, 2003), pannicolite nodulare (Guaguere E, 2000), fistola metatarsale del Pastore Tedesco (Robson DC e Burton GG, 2003), follicolite granulomatosa e foruncolosi (Noli C e Toma S, 2006), arterite nasale/dermatosi ulcerativa nasale (Robson DC e Burton GG, 2003), dermatite facciale del gatto Persiano (Fontaine J e Heimann M, 2004), granuloma sterile e piogranuloma (Robson DC e Burton GG, 2003), istiocitosi cutanea reattiva (Palmeiro BS et al., 2007), pododermatite plasmacellulare felina, vasculite e dermatopatia ischemica, ipercheratosi follicolare del Cocker Spaniel, pioderma profondo del Pastore Tedesco, seborrea primaria dello Springer Spaniel-Terrier Cairn-West Highland White

Terriers, otite esterna proliferativa del Cocker Spaniel e del Labrador Retrievers, orticaria pigmentosa felina.

Tacrolimus: è un macrolide con azione simile alla ciclosporina che provoca l'inibizione della calcineurina.

Inibisce le cellule T che presentano l'antigene e la loro produzione di citochine, cheratinociti e cellule di Langherans.

Questo farmaco è approvato negli esseri umani per il trattamento della DA e della psoriasi (Miller WH et al., 2013).

Il tacrolimus è disponibile in formulazione in crema allo 0,1% e, al contrario della ciclosporina, penetra l'epidermide e svolge la sua azione nel derma delle aree direttamente interessate. Questo tipo di intervento è particolarmente utile nelle forme molto localizzate di DA ed è praticamente scevro di effetti collaterali, con eccezione di lieve sensazione d'irritazione osservata nei primi giorni di applicazione (Noli C e Toma S, (d) 2011).

Uno studio ha confrontato l'efficacia del tacrolimus con un placebo su un gruppo di 12 cani atopici. Il tacrolimus unguento ha significativamente ridotto, sia secondo i medici veterinari che secondo i proprietari, la gravità dei sintomi.

Tacrolimus è stato rilevato nel sangue dei pazienti trattati, ma con concentrazioni inferiori ai livelli di tossicità, senza alcun effetto avverso.

In un altro studio, tacrolimus è stato controllato con un placebo (vasellina), in 20 soggetti atopici che presentavano lesioni localizzate ad entrambi i metacarpi anteriori. Ogni piede è stato trattato localmente con tacrolimus 0,1% o vasellina due volte al giorno per 6 settimane. In conclusione dello studio è stata dimostrata l'efficacia del tacrolimus, grazie al quale si è ottenuta una riduzione delle lesioni oltre il 50%.

Tacrolimus 0,1% si è dimostrato utile anche in alcuni casi di lupus eritematoso discoide (DLE) e pemfigo eritematoso (PE). In uno studio, 10 casi di DLE e 2 casi di PE sono stati trattati due volte al giorno per 6 settimane. Sono state osservate risposte eccellenti (3 DLE e 2 PE) e 5 risposte parziali (tutti DLE). In nessun caso è stata osservata tossicità del farmaco o aumenti sierici.

Tacrolimus è stato anche segnalato per essere efficace nel trattamento della fistola perianale, dermatite ulcerativa nasale dei gatti del Bengala, fistola metatarsale del Pastore Tedesco e per altre condizioni infiammatorie.

Ci sono state delle recenti preoccupazioni riguardo al rischio di neoplasie utilizzando gli inibitori della calcineurina negli esseri umani.

Un avvertimento dalla U.S. Food and Drug Administration (FDA) riguarda il rischio teorico di sviluppare neoplasie con l'utilizzo di questi farmaci. Ma i dati scientifici attuali non supportano questa preoccupazione per il rischio di malignità; ma a causa di queste avvertenze, si raccomanda di applicare i prodotti previo uso dei guanti (Miller WH et al., 2013).

Pimecrolimus: è un derivato macrolattamico che agisce in modo simile al tacrolimus.

Permea meno attraverso la pelle rispetto al tacrolimus, e molto meno rispetto ai cortisonici. Si ha quindi un minore assorbimento transcutaneo dopo somministrazione topica, con minori rischi di effetti sistemici.

Ha proprietà antinfiammatorie, soprattutto per lesioni cutanee, ma meno immunosoppressive, a differenza del tacrolimus.

Anche per questo farmaco si raccomanda l'utilizzo dei guanti per l'applicazione topica (Miller WH et al., 2013).

4.4.3 Altri antiinfiammatori sistemici non steroidei

Antidepressivi triciclici: sono utilizzati nel trattamento delle malattie comportamentali (ad es. disordini ossessivo/compulsivi) di cani e persone. Sono anche impiegati per il trattamento del prurito, anche se alcuni studi dimostrano la loro inefficacia (Olivry T e Mueller RS, 2003).

Altri studi, invece, hanno dimostrato che questi farmaci, a volte, possono essere efficaci nel ridurre il prurito di pazienti atopici. Non è chiaro se la risposta sia dovuta agli effetti comportamentali, sedativi o antistaminici (Doxepin è 800 volte più potente della difenidramina come antagonista del recettore istaminico) (Gupta M e Gupta A, 2001).

Questi farmaci, così come gli antistaminici, hanno sinergia con gli EFA.

Doxepin e Amitriptylina sono i più utilizzati, entrambi al dosaggio di 0,5-1 mg/kg ogni 12 ore. Dovrebbero essere usati almeno per 21 giorni prima di valutarne l'efficacia. La sedazione è un comune effetto collaterale (Bloom P, 2013).

Inibitori dei leucotrieni: sono stati provati in alcuni studi clinici; Tepolaxin ha mostrato una certa efficacia nel controllare casi più lievi di DA. (Carlotti DN, 2009) Mentre Dextrometorfan o Capsaicina hanno dimostrato un'efficacia ridotta o assente nel trattare soggetti atopici (Olivry T et al., 2010).

Inibitori della fosfodiesterasi: Arofillina e Pentoxifillina sono stati valutati in alcuni studi: la prima è stata mal tollerata (Carlotti DN, 2009).

La Pentoxifillina è un immunomodulatore, capace di controllare i segni clinici della DA; in particolare aumenta la chemiotassi leucocitaria, diminuisce l'aggregazione piastrinica, la risposta

leucocitaria a IL-1 E TNF-alfa, la produzione di TNF-alfa dai macrofagi, la produzione di IL-1, IL-4 e IL-12, inibisce l'attivazione dei linfociti T e B, diminuisce l'attività delle natural killer (NK) e inibisce l'adesione delle cellule T ai cheratinociti (Millier WH et al., 2013).

Misoprostol: è un analogo della prostaglandina E; in uno studio controllato ha mostrato una moderata efficacia (Carlotti DN, 2009).

E' stato utilizzato nella terapia della dermatite atopica canina, portando ad una riduzione del prurito e della gravità delle lesioni cutanee. Il dosaggio consigliato è 5 µg/kg per via orale, ogni 8 ore (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

4.5 Gli acidi grassi essenziali

La funzione della barriera cutanea nei pazienti atopici è compromessa per alterazione qualitativa e quantitativa degli acidi grassi che compongono il cemento intercellulare dei cheratinociti dello strato corneo. Il ripristino della barriera cutanea è un fattore fondamentale nel trattamento della dermatite atopica in dermatologia umana e, sebbene in medicina veterinaria non siano disponibili dati inconfutabili riguardo la sua validità, questo obiettivo dovrebbe essere preso in considerazione nell'approccio terapeutico multifattoriale della malattia. La barriera può essere ripristinata e migliorata con interventi dietetici o topici (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Gli acidi grassi sono lunghe catene di carbonio con un gruppo metile ad un'estremità. Gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA) hanno doppi legami. La formula numerica utilizzata per identificare gli acidi grassi è costituita dal numero di atomi di carbonio, seguito dal numero dei doppi legami e la posizione del primo doppio legame a

partire dal gruppo metilico. Pertanto, la formula dell'acido linoleico (18: 2N-6) sta ad indicare che ci sono 18 atomi di carbonio e due doppi legami, col primo sul sesto atomo di carbonio a partire dal gruppo metilico terminale.

Gli acidi grassi che hanno il primo doppio legame a 3 atomi di carbonio dal gruppo metilico sono gli omega-3 (N-3). Gli acidi grassi poliinsaturi omega-6 (N-6) hanno il primo doppio legame a 6 atomi di carbonio dal gruppo metilico.

Queste due serie complete di acidi grassi non possono essere sintetizzate dai cani e dai gatti, e quindi la molecola 18-carbonio (acido linoleico e acido linolenico) deve essere introdotta con la dieta. Per questo motivo sono chiamati *acidi grassi essenziali* (EFA).

Gli EFA più importanti nell'omeostasi cutanea del cane sono l'acido linoleico (18: 2N-6) e l'acido alfa-linolenico (18: 3N-3).

Nel gatto, l'acido arachidonico (20: 4N-6) è anche un EFA.

Dihomo-gamma-linoleico (DGLA) (20: 3N-6) e l'acido eicosapentaenoico (EPA) (20: 5N-3) possono essere sintetizzati negli animali rispettivamente dall'acido linoleico e dall'acido alfa-linolenico.

Per la sintesi degli acidi grassi intervengono gli enzimi desaturasi che inseriscono i doppi legami nella catena carboniosa.

Altri enzimi chiamati *elongase* aggiungono molecole di carbonio supplementari alla catena esistente.

La presenza di questi specifici enzimi varia tra le diverse specie animali e tra gli individui con determinate malattie.

Il miglior esempio è la carenza di delta-6-desaturasi nei soggetti atopici umani, in cui la pelle è anche carente di enzimi saturasi. Pertanto, quando l'acido linoleico, acido gamma-linolenico (18: 3N-6) o DGLA si accumulano localmente, non possono essere metabolizzati ad acido arachidonico.

DGLA compete con l'acido arachidonico per gli enzimi ciclossigenasi e lipossigenasi. Questa inibizione competitiva, oltre agli effetti dei

loro sottoprodotti metabolici, è considerata il meccanismo ad azione antiinfiammatoria della terapia con acidi grassi, che generalmente comporta modificazioni nell'attività e nella sintesi di prostaglandine e leucotrieni.

I sottoprodotti metabolici sono importanti nel promuovere o inibire l'infiammazione. Questo è particolarmente vero per i metaboliti dell'acido arachidonico.

L'acido arachidonico è immagazzinato nelle cellule in una forma non disponibile finchè viene liberato dall'azione delle fosfolipasi A2. I metaboliti dell'acido arachidonico sono stati identificati in molti tipi di cellule che partecipano a reazioni di ipersensibilità (mastociti, neutrofili, eosinofili, linfociti, monociti, macrofagi, cheratinociti e cellule endoteliali vasali).

Gli effetti delle prostaglandine sulla pelle comprendono alterazione della permeabilità vascolare, potenziamento di sostanze vasoattive come l'istamina, modulazione della funzione dei linfociti e amplificazione del dolore e del prurito.

Prostaglandine e leucotrieni si potenziano reciprocamente.

Gli effetti dei leucotrieni sulla pelle sono: alterazione della permeabilità vascolare, attivazione dei neutrofili, modificazione della funzione linfocitaria, chemiotassi di neutrofili ed eosinofili.

Il meccanismo degli EFA per controllare il prurito riguarda l'inibizione del metabolismo dell'acido arachidonico e l'alterazione dei sottoprodotti metabolici del metabolismo degli acidi grassi.

Gli integratori utilizzati per il controllo del prurito di solito contengono acido gamma-linolenico e EPA.

L'acido gamma-linolenico si trova in elevate concentrazioni nell'anotera, borragine e olio di ribes nero.

La forma allungata DGLA compete direttamente con l'acido arachidonico come substrato per la ciclossigenasi e la 15-lipossigenasi. Il risultato del metabolismo della DGLA è la

formazione di prostaglandine E1 e l'acido 15-idrossieicosatetranoico, entrambi i quali si pensa abbiano effetti antiinfiammatori.

EPA, che di solito è estratto da olio di pesce o olio di krill, compete anche come substrato per la ciclossigenasi e la 5 e 15-lipossigenasi. EPA può essere fornita anche dalla conversione di acido alfa-linolenico e acido decosaesanoico (DHA).

Una fonte eccellente di acido alfa-linolenico sono i semi di chia o semi di lino.

Dal metabolismo degli EPA ne risulta la formazione di leucotriene B5 e acido 15-idrossieicosaptenoico. Questi due prodotti inibiscono il leucotriene B4, un potente proinfiammatorio.

Oltre alla possibilità di aggiungere acido linoleico alla dieta bisogna considerare anche una corretta gestione del cibo; infatti cuocere troppo gli alimenti può diminuire i livelli di acido linoleico.

La maggior parte delle diete commerciali hanno adeguati livelli di acido linoleico; si possono comunque effettuare delle supplementazioni dell'acido per garantirne l'apporto, con l'aggiunta di 5ml (1 cucchiaino) di olio di girasole o di cartamo per 240 ml di cibo secco.

Gli acidi grassi, come detto in precedenza, rappresentano una componente importante della normale dieta. Controllando i livelli di omega-6 e omega-3 nella dieta, si può modificare il rilascio dei mediatori dell'infiammazione.

Due studi hanno valutato il rapporto di omega-6 e omega-3 nella razione (5:1), mostrando simili risultati: oltre il 40% dei soggetti atopici con prurito mostravano miglioramenti (Millier WH et al., 2013).

L'integrazione dietetica di acidi grassi essenziali si è dimostrata efficace nel migliorare quantità e qualità dei lipidi dello strato corneo. Questa può essere effettuata con veri e propri integratori, a base di acidi grassi poliinsaturi (PUFA) in capsule, olii concentrati o

creme che possono essere aggiunte al cibo, oppure tramite l'uso di diete commerciali "dermatologiche" arricchite con PUFA, oltre che a una serie di vitamine e oligoelementi. Oltre all'approccio dietetico, la barriera cutanea può essere ripristinata attraverso l'uso di prodotti topici, shampoo, spot-on o lozioni, contenenti PUFA, colloidali dell'avena, fitostingosina o ceramidi.

In entrambi i casi, sia per l'integrazione alimentare sia per le formulazioni topiche, sebbene i prodotti siano in commercio da diversi anni, gli studi clinici che ne provino l'efficacia sono in qualche modo incompleti e non sicuramente significativi (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Tuttavia ci sono degli studi più recenti, i quali dimostrano che gli integratori EFA o diete arricchite con EFA hanno effetti positivi.

Più recentemente l'attenzione sembra essersi concentrata sulle diete EFA arricchite.

In due studi è stato dimostrato che in soggetti atopici, le diete arricchite con EFA, mostravano una migliore qualità del mantello.

Un altro studio ha dimostrato che somministrando omega-3 a soggetti atopici si ha una buona riduzione del prurito (Millier WH et al., 2013), con o senza omega-6 (Carlotti DN, 2009).

Il tempo di somministrazione degli EFA, per raggiungere risultati positivi è estremamente variabile ed individuale, ma si consiglia il trattamento dalle 9 alle 12 settimane.

Uno studio sulle formulazioni *spot-on* di acidi grassi poliinsaturi ha dimostrato la loro efficacia in soggetti con dermatite atopica. Un totale di 48 cani è stato arruolato per lo studio; sono stati creati due gruppi, uno trattato con placebo e uno trattato con PUFA. Entrambi i prodotti venivano applicati sulla parte dorsale del collo, una volta alla settimana, per 8 settimane. Nel gruppo trattato con PUFA *spot-on* si è assistito ad un significativo miglioramento delle lesioni e del prurito. Questo studio dimostra che le preparazioni topiche

contenenti PUFA o olii essenziali rappresentano un trattamento sicuro e vantaggioso nel migliorare i segni clinici della dermatite atopica (Blaskovic M et al.,2014).

Infine, un ultimo studio ha dimostrato che associando un integratore liquido a base di EFA a prednisolone, si ottiene, dopo circa due mesi, ad una riduzione della dose del cortisone (Bloom P, 2013).

I rischi e gli effetti collaterali degli EFA sono rari ed esigui.

Il più grave, riportato raramente, è la pancreatite. Con dosi eccessive si può manifestare diarrea ed obesità. Con integratori a base di olio di pesce alcuni proprietari hanno segnalato un odore sgradevole ed un aumento dell'eruttazione (alito di pesce). È stata segnalata anche un'anomalia piastrinica e disturbi della coagulazione con diete ricche di acidi grassi omega-3 (Millier WH et al., 2013).

4.6 PEA (Palmitoiletanolamide)

PEA, o N-palmitoiletanolamina, è un N-acil lipide prodotto naturalmente in seguito a stimoli della più varia natura. In natura lo si rinviene anche nel tuorlo d'uovo e nella soia. La PEA appartiene alla classe dei composti ALIA (*Autacoid Local Injury Antagonist*), quelle sostanze endogene capaci di modulare l'iperdegranulazione dei mastociti, cellule distribuite nei tessuti di frontiera (connettivi e mucose). La PEA, dunque, è un fattore nutrizionale che nell'organismo agisce come modulatore biologico, favorendo il controllo della fisiologica reattività cutanea. È conseguentemente utile per il regime alimentare di cani e gatti con disordini cutanei sostenuti da iper-reattività mastocitaria, per contrastare fisiologicamente il deficit di produzione endogena della palmitoiletanolamide, che si determina quando l'organismo, sottoposto a ricorrenti condizioni di tipo infiammatorio, esaurisce la sua naturale capacità di sintesi, com'è stato dimostrato, ad esempio,

nel cane atopico. Nei mastociti di cane la PEA riduce in modo dose-dipendente il rilascio dei mediatori infiammatori, come l'istamina. La somministrazione di PEA a cani beagleiper-reattivi ritarda lo sviluppo di lesioni cutanee di tipo allergico.

La PEA è una sostanza lipidica naturalmente presente anche in varie strutture dell'occhio, dove i suoi livelli si modificano in corso di malattia, al fine di proteggere i tessuti. L'applicazione topica di pea, resa solubile grazie all'uso della ciclodestrina, mima i naturali meccanismi di protezione dell'occhio, esercitando un effetto lenitivo. PEA, inoltre, è in grado di controllare la reattività sia delle alte che delle basse vie urinarie. In questo modo, garantisce la fisiologica funzione del rene e della vescica, come dimostrato da numerosi studi sperimentali. Infine, si è dimostrato che nel duodeno di cane, il contenuto di PEA aumenta di 5 volte di corso di alterazioni intestinali. Somministrata per via esogena, PEA normalizza la mucosa intestinale sottoposta a stress di varia natura, mimando le naturali strategie protettive.

La riduzione della dimensione delle particelle di PEA, tramite processi di micronizzazione (PEA-m) e ultramicronizzazione (PEA-um), ha consentito di ottenere un principio attivo a maggiore biodisponibilità, energia potenziale ed attività.

Sul mercato la PEA ultramicrolizzata è registrata come Redonyl ultra e si presenta in capsule da 50 mg e 150 mg (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Chiara Noli medico veterinario e Diplomata Europea in Dermatologia Veterinaria (Dip ECVD), ha presentato in anteprima assoluta a Salisburgo i risultati dello studio condotto dallo Skinalia® Clinical Research Group: la task force di diplomati ed esperti dermatologi italiani, coordinati dalla Noli stessa, ha valutato l'effetto della somministrazione orale a lungo termine della PEA-um sul prurito, le

lesioni dermatologiche e la qualità della vita di 160 cani con diagnosi di dermatite atopica non stagionale.

Tramite l'utilizzo di scale rigorose e validate, lo studio Skinalia® ha dimostrato che, dopo 8 settimane di somministrazione orale, la PEA-um è in grado di:

- ridurre significativamente il prurito nell'83% dei cani, portando ad un miglioramento superiore al 50% e a una totale remissione del sintomo rispettivamente nel 35% e nel 30% dei soggetti inclusi;
 - diminuire significativamente la gravità delle lesioni atopiche, sia precoci che tardive, nell'81% dei cani, con un miglioramento tanto più evidente quanto più gravi sono le lesioni iniziali;
 - migliorare significativamente la qualità di vita sia dei cani che dei loro proprietari, tanto da raggiungere nel 47% dei casi valori di qualità di vita perfettamente sovrapponibili a quelli di cani sani.
- I risultati ottenuti hanno definito la PEA-um, unitamente alla sua ottima tollerabilità, un formidabile strumento in grado di contrastare il prurito e le lesioni atopiche, consentendo nel contempo a cani e proprietari di recuperare una buona qualità della vita (Noli C et al., 2014).

4.7 Novità terapeutiche: Oclacitinib

L'Apoquel è un medicinale veterinario contenente come principio attivo oclacitinib. È disponibile in compresse a tre diversi dosaggi (3,5 mg, 5,4 mg e 16 mg), da somministrare a seconda del peso del cane.

È indicato per il trattamento del prurito associato a dermatite allergica ed atopica.

La dose iniziale è di 0,4-0,6 mg/kg, somministrabile due volte al giorno fino ad un massimo di due settimane. Successivamente il

trattamento può essere protratto con la stessa dose somministrata una sola volta al giorno (European Medicines Agency, 2013).

MECCANISMO D'AZIONE

L'oclacitinib è un immunomodulatore (modifica l'attività del sistema immunitario) che agisce bloccando l'azione di enzimi noti come Janus chinasi (JAK). Questi enzimi svolgono un ruolo importante nei processi infiammatori e nel prurito osservati nella dermatite atopica. Bloccando questi enzimi, oclacitinib riduce l'infiammazione e il prurito (European Medicines Agency, 2013).

In particolare oclacitinib inibisce la funzione delle citochine proinfiammatorie e pruritogene JAK 1-dipendenti (Febbo E e Vezzoni A, 2014) coinvolte nella dermatite atopica, tra cui IL-2, IL-4, IL-6 e IL-13. Inoltre, recentemente è stato dimostrato che oclacitinib è coinvolto anche nell'inibizione dell'IL-31, interessata nella patogenesi del prurito.

L'efficacia di oclacitinib è stata valutata nell'ambito di diversi studi.

Un primo studio ha confrontato l'efficacia dell'oclacitinib rispetto ad un placebo. Per lo studio sono stati arruolati 299 cani con una storia di DA cronica. I soggetti hanno ricevuto oclacitinib (0,4-0,6 mg/kg, due volte al giorno per 14 giorni e poi una volta al giorno per un massimo di 112 giorni) o placebo. Oclacitinib ha fornito una diminuzione del prurito più rapido ed efficace rispetto al placebo. Un secondo studio ha confrontato l'oclacitinib con un placebo. In questo studio sono stati valutati 436 pazienti con prurito da moderato a grave. I pazienti sono stati trattati con oclacitinib (0,4-0,6 mg/kg per via orale, due volte al giorno) o placebo. Anche in questo caso oclacitinib ha dimostrato un controllo del prurito significativamente migliore rispetto al placebo (Cosgrove SB et al., 2013).

infine, un ultimo studio ha valutato l'efficacia e la sicurezza di oclacitinib rispetto al prednisolone, nel controllo del prurito

associato a dermatite atopica. Per lo studio sono stati valutati 123 cani di proprietà, con diagnosi di DA, trattati con oclacitinib (0,4-0,6 mg/kg per via orale, due volte al giorno per 14 giorni, poi una volta al giorno) o prednisolone (0,5-1,0 mg/kg una volta al giorno per 6 giorni, poi a giorni alterni) per 28 giorni. Entrambi i trattamenti sono risultati efficaci entro 4 ore. Le riduzioni medie di prurito ed eritema non mostravano differenze sostanziali tra i due trattamenti, ad eccezione del quattordicesimo giorno, in cui le riduzioni erano più pronunciate con oclacitinib. Gli eventi avversi sono stati riportati con frequenza simile in entrambi i gruppi (Gadeyne C et al., 2014).

FARMACOCINETICA

Dopo somministrazione orale nel cane, oclacitinib maleato è ben assorbito e raggiunge rapidamente la massima concentrazione nel plasma ($T_{max} < 1$ ora). La biodisponibilità assoluta è dell'89%. Lo stato prandiale del cane non modifica significativamente la velocità o l'entità del suo assorbimento. La clearance corporea totale dell'oclacitinib dal plasma è bassa (316 ml/h/kg, 5,3 ml/min/kg) e il volume apparente di distribuzione allo stato stazionario è stato di 942 ml/kg. L'oclacitinib presenta un basso legame farmaco-proteico ed è metabolizzato con formazione di metaboliti multipli. Un principale metabolita ossidativo è stato identificato nel plasma e nelle urine. Nel complesso, il metabolismo costituisce la via primaria di eliminazione, con contributi minori da parte dell'escrezione renale e biliare. L'inibizione dei citocromi canini P450 è minima (a differenza della ciclosporina); di conseguenza, il rischio di interazioni farmaco-metaboliche dovute all'inibizione di oclacitinib è basso. Non è stato osservato accumulo del farmaco nel sangue di cani trattati per periodi continui di 6 mesi (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

La farmacocinetica dell'oclacitinib è stata studiata valutando tre studi separati. Il primo valutava la biodisponibilità assoluta del farmaco, il secondo l'effetto del cibo sulla biodisponibilità e il terzo

l'effetto della razza sulla farmacocinetica del farmaco. Oclacitinib maleato è stato rapidamente e ben assorbito dopo somministrazione orale, raggiungendo il picco della concentrazione plasmatica in meno di 1 ora e con una biodisponibilità assoluta dell'89%. Lo stato prandiale dei cani non ha influenzato significativamente il grado di assorbimento del farmaco quando somministrato per via orale, come dimostrato dalla mancanza di differenza nei parametri farmacocinetici tra i gruppi trattati a digiuno e non. La farmacocinetica appare simile in tutte le razze e non ci sono state evidenti differenze relative al sesso (Collard WT et al., 2014).

INDICAZIONI/AVVERTENZE

Il farmaco non va somministrato in soggetti con ipersensibilità al principio attivo o a uno degli eccipienti, in cani di età inferiore a 12 mesi o di peso corporeo a 3 kg, in soggetti che presentano evidente immunosoppressione, come l'iperadrenocorticismismo, o evidenze di patologia maligna progressiva, in quanto il principio attivo non è stato valutato in questi casi. Inoltre, il farmaco non è stato valutato durante la gravidanza, l'allattamento e nei maschi riproduttori.

L'oclacitinib modula il sistema immunitario e può aumentare la suscettibilità all'infezione e aggravare le condizioni neoplastiche. Pertanto, i cani trattati con oclacitinib compresse devono essere monitorati per l'insorgenza di infezioni e neoplasie. Quando oclacitinib viene impiegato per il trattamento del prurito associato a dermatite allergica, bisogna ricercare e trattare le cause sottostanti (ad esempio, dermatite allergica da pulci, dermatite da contatto, ipersensibilità agli alimenti).

Inoltre, in caso di dermatite allergica e dermatite atopica, si raccomanda di ricercare e trattare i fattori complicanti quali le infezioni/infestazioni da batteri, funghi o parassiti (ad es., pulci e parassiti della rogna).

EFFETTI COLLATERALI

Le reazioni avverse comuni (più di 1 ma meno di 10 animali su 100 animali) osservate fino al giorno 16 degli studi di campo, sono state diarrea, vomito, anoressia, noduli cutanei o sottocutanei, letargia, polidipsia. Dopo il giorno 16, a precedenti segni clinici si aggiungevano, nell'1% dei cani trattati: piodermite, noduli cutanei aspecifici, otite, istiocitoma, cistite, micosi cutanee, pododermatite, lipoma, linfadenopatia, nausea, polifagia, aggressività. Le alterazioni clinico-patologiche correlate al trattamento si sono limitate ad un aumento del colesterolo sierico medio e una riduzione della conta leucocitaria media; tuttavia, tutti i valori medi sono rimasti nel range dei valori di riferimento di laboratorio. La riduzione della conta leucocitaria media osservata nei cani trattati con oclacitinib non è stata progressiva e ha riguardato tutti i globuli bianchi (conta dei neutrofili, degli eosinofili e dei monociti) ad eccezione della conta dei linfociti.

Le compresse di oclacitinib sono state somministrate a cani Beagle sani di 1 anno di età, due volte al giorno, per 6 settimane e successivamente una volta al giorno, per 20 settimane, alla dose di 0,6 mg/kg, 1,8 mg/kg e 3,0 mg/kg per un totale di 26 settimane. Le osservazioni cliniche considerate, probabilmente correlate al trattamento con oclacitinib, includevano: alopecia locale, papilloma, dermatite, eritema, abrasioni ed escara/croste, cisti interdigitali ed edema delle zampe. Le lesioni cutanee sono state in gran parte secondarie allo sviluppo di una foruncolosi interdigitale in uno o più zampe durante lo studio, ed il numero e la frequenza delle osservazioni sono aumentate con l'incremento della dose. La linfadenopatia dei linfonodi periferici è stata notata in tutti i gruppi, la sua frequenza è aumentata con l'incremento della dose ed è stata spesso associata a foruncolosi interdigitale. Il papilloma è stato considerato correlato al trattamento ma non alla dose.

INTERAZIONI FARMACOLOGICHE

Negli studi di campo, nei quali l'oclacitinib è stato somministrato contemporaneamente a medicinali veterinari quali endo- ed ectoparassitici, antimicrobici ed antiinfiammatori, non sono state osservate interazioni farmacologiche.

È stato studiato l'effetto della somministrazione di oclacitinib sulla vaccinazione con vaccini vivi modificati, parvovirus canino (CPV), virus del cimurro canino (CDV), parainfluenza canina (CPI) e con il vaccino inattivato contro la rabbia (RV), in cuccioli di 16 settimane mai trattati con il vaccino. Una risposta immunologica adeguata alla vaccinazione CDV e CPV è stata ottenuta quando ai cuccioli è stato somministrato oclacitinib alla dose 1,8 mg/kg, due volte al giorno, per 84 giorni. Tuttavia, i risultati di questo studio hanno indicato una riduzione della risposta sierologica alla vaccinazione con CPI e RV nei cuccioli trattati con oclacitinib rispetto ai controlli non trattati (Febbo E e Vezzoni A, 2014).

Il comitato per i medici veterinari (CVMP) ha concluso che i benefici di Apoquel sono superiori ai suoi rischi per le indicazioni approvate e ha raccomandato il rilascio dell'autorizzazione all'immissione in commercio del medicinale.

In data 12 settembre 2013 la Commissione europea ha rilasciato un'autorizzazione all'immissione in commercio per Apoquel®, valida in tutta l'Unione europea (European Medicines Agency, 2013).

4.8 Test allergometrici e Immunoterapia

Le prove allergologiche per intradermoreazione e i test allergologici in vitro vengono eseguiti solo dopo che è stata formulata una diagnosi di dermatite atopica e si vuole identificare gli allergeni responsabili dell'ipersensibilità. I test in vivo e quelli in vitro misurano la presenza di IgE allergene-specifiche per i più comuni

allergeni, i primi nella cute, i secondi nel sangue. Tuttavia, queste immunoglobuline possono essere ritrovate in soggetti assolutamente sani, come anche essere assenti in animali chiaramente atopici. Pertanto, i test allergometrici non possono essere utilizzati per la diagnosi di dermatite atopica, ma sono utilizzati a scopo terapeutico, in quanto permettono di identificare gli allergeni coinvolti nell'insorgenza della malattia, al fine di attuare un piano di prevenzione della loro esposizione, qualora possibili, o formulare un'immunoterapia desensibilizzante allergene-specifica (*Allergen Specific Immune Therapy* (ASIT), anche conosciuta come “vaccino per le allergie”).

I test allergometrici si dividono in due gruppi: test d'intradermoreazione (o skin test) e test sierologici.

Il test d'intradermoreazione si effettua iniettando una piccola quantità di estratto allergenico, adeguatamente diluito, nello spazio intradermico cutaneo, dove risiedono i mastociti sensibilizzati grazie alla presenza di IgE allergene-specifiche sulla loro superficie. L'allergene, legandosi alle IgE, induce degranulazione mastocitaria e formazione del pomfo nel punto d'inoculo, che può essere visualizzato in pochi minuti in caso di prova positiva. Il test d'intradermoreazione è quindi estremamente sensibile, poiché ricalca la patogenesi della malattia naturale, ma presenta alcuni svantaggi. Innanzitutto, non si può effettuare in animali che sono sotto terapia con steroidi o antistaminici, anche in formulazione topica: per questi farmaci si consiglia un periodo di sospensione di almeno 2 settimane prima di effettuare il test. Le femmine in calore possono avere risultati falsamente negativi, a causa dell'interferenza degli steroidi sessuali. La liberazione di catecolamine, che avviene negli animali sotto stress, può inibire la formazione di pomfi. Alcuni farmaci anestetici interferiscono con il test, come, per esempio, acepromazina, per il suo effetto antistaminico (falsi negativi), od

oppioidi, per capacità di indurre degranulazione mastocitaria (falsi positivi). Inoltre, il test necessita tosatura e, a volte, sedazione del paziente, una certa esperienza nell'esecuzione e nell'interpretazione dei risultati, oltre che nella scelta e preparazione degli allergeni, che hanno un costo elevato. Per la scelta degli allergeni stagionali (alberi e pollini) da includere nel pannello, si consiglia di contattare un allergologo locale, poiché gli antigeni possono variare a seconda della zona. Per gli allergeni perianuali di origine non vegetale, si consiglia di includere sempre gli acari della polvere di casa (*Dermatophagoides farinae* e *D. pteronyssinus*), gli acari delle derrate alimentari (*Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Glyciphagus domesticus*), le muffe (*Alternaria* spp, *Cladosporium* spp, *Mucor* spp), l'epitelio del gatto e l'estratto di pulce. I controlli positivo e negativo sono rappresentati da istamina (1:100.000) e soluzione fisiologica fenolata (veicolo degli allergeni).

Per l'inoculazione degli allergeni si utilizzano siringhe da insulina numerate (tante quanti sono gli allergeni da inoculare più i controlli positivo e negativo), con aghi da 27 G, preferibilmente corti e poco flessibili. Si consiglia di riempire le siringhe con bassi quantitativi di allergene (massimo 0,3 ml), sufficiente per il numero di test che si prevede di eseguire nelle successive una o due settimane, poiché gli estratti perdono di efficacia a contatto con la plastica e vanno cambiati ogni 7-15 giorni al massimo. Si consiglia, inoltre, di cambiare spesso gli aghi, poiché si spuntano facilmente. Per eseguire il test si tosa una finestra di mantello di 10 x 15 cm sul torace dell' animale, in modo da eliminare completamente il pelo. Si sconsiglia di utilizzare il rasoio, poiché questo può irritare molto la cute e causare artefatti durante la lettura del test. I cani più irrequieti e tutti i gatti vanno sedati, evitando l'uso di acepromazina ed oppioidi; in alternativa si possono impiegare: diazepam, ketamina, xilazina, metedomidina o propofol. Prima di eseguire il

test, si segnano con un pennarello i punti nei pressi dei quali si inoculano gli allergeni, in modo da poter riconoscere le reazioni positive e quelle negative. L'ago va inserito in direzione quasi parallela a quella della cute, con fessura verso l'alto, molto superficialmente nello spessore del derma. Vanno quindi inoculati circa 0,05 ml di estratto, in modo da ottenere una serie di pomfi di dimensione simile. Dopo 10-20 minuti, si valutano i risultati del test, che sono positivi se si osserva formazione di un pomfo rilevato ed eritematoso. Uno dei modi più semplici per la valutazione dei pomfi è quello di considerare “3+” i pomfi simili alla reazione ottenuta con l'istamina, “4+” i pomfi di dimensioni superiori, “2+” i pomfi ben visibili ed eritematosi, ma di dimensioni inferiori a quelli dell'istamina, e negative tutte le altre reazioni. La valutazione dell'allergene della pulce va ripetuta anche dopo 24 e 48 ore, poiché sono possibili reazioni di tipo ritardato cellulomediato.

I test sierologici rivelano le IgE presenti nel siero e prima che queste siano fissate ai mastociti cutanei. Per questo motivo, il test può essere meno sensibile e specifico, ma ha alcuni importanti vantaggi: non necessita l'interruzione dei farmaci antiprurito, sedazione e tosatura, si può effettuare in pazienti in calore e i risultati sono di facile e oggettiva interpretazione. Gli svantaggi sono rappresentati dal costo più alto e tempistica più lunga per ottenere i risultati. Le tecniche per determinare la concentrazione di IgE nel siero sono numerose e alcune sono migliori di altre. Purtroppo, ad oggi, non esiste una tecnica standard ritenuta valida e adottata da tutti i laboratori e i test sierologici, in passato, sono risultati scarsamente ripetibili, al punto che, in alcuni studi sperimentali, il siero dello stesso animale, analizzato dallo stesso laboratorio, nello stesso giorno ma con due nominativi differenti, ha prodotto risultati scarsamente sovrapponibili. Una nuova tecnica sfrutta il legame delle IgE circolanti a un recettore ricombinante ad alta affinità e, al

momento, sembra essere la metodica più sensibile disponibile sul mercato.

Qualunque sia la tecnica utilizzata, gli allergeni per la formulazione dell'immunoterapia dovrebbero essere scelti alla luce della storia clinica del paziente e in base all'area geografica nella quale il soggetto vive. Se i test dovessero risultare negativi, in un animale con forte sospetto di dermatite atopica, le ragioni possono essere diverse, come elencato di seguito.

Per entrambi i test:

- nel test non sono state incluse le sostanze cui il soggetto è allergico;
- il soggetto non è atopico;
- il soggetto è atopico, della forma detta “intrinseca” (10% dei soggetti atopici non produce IgE).

Per il test in vitro:

- il siero è stato refrigerato/congelato e scongelato/scaldato più volte prima dell'analisi;
- esiste qualche difetto nella procedura di laboratorio

Per il test d'intradermoreazione:

- il soggetto è in calore o soffre di squilibri ormonali (iperadrenocorticism);
- al soggetto sono stati somministrati preparati steroidei a deposito o acidi grassi essenziali da meno di 6 settimane;
- al soggetto sono stati somministrati preparati steroidei a breve durata, o antistaminici o inibitori della degranulazione mastocitaria (palmidrol) nelle ultime 2 settimane;

- gli allergeni usati per l'intradermoreazione non sono freschi o sono rimasti a lungo nelle siringhe di plastica o fuori dal frigorifero;
- gli allergeni utilizzati sono di dubbia provenienza o appartengono a un lotto con difetti di fabbricazione.

L'immunoterapia allergene-specifica è una metodica utilizzata per desensibilizzare il soggetto allergico nei confronti degli allergeni capaci di indurre ipersensibilità (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Prevede la somministrazione di dosi crescenti di uno o più allergeni specifici, per il trattamento delle malattie allergiche IgE-mediate, fino al mantenimento di un dosaggio o fino a che il paziente risulti privo di sintomi (Ring J e Gutermuth J, 2011).

L'immunoterapia non è solo la terapia più efficace per le allergie, ma permette anche di ripristinare specificatamente una normale immunità contro gli allergeni nelle malattie a lungo termine. L'inoculazione di allergeni porta ad una tolleranza allergene-specifica da parte delle cellule della memoria T e B, grazie alla quale non si verificano eventi infiammatori o IgE-mediati (Jutel M e Akdis CA, 2011).

Ad oggi questo tipo di terapia è considerato come un trattamento di ripristino della normale immunità contro gli allergeni attraverso il reindirizzamento delle inappropriate risposte T-helper (Th)2. Favorisce la produzione di citochine Th1, come interferone-gamma, rispetto alle citochine Th2 e induce la secrezione di IL-10. Inoltre, il trattamento è associato all'aumento di produzione di anticorpi allergene-specifici, in particolare IgG4 e in misura minore IgA. Questi cambiamenti sono accompagnati dalla soppressione dei mastociti, degli eosinofili e dei basofili (Senti G et al., 2011).

Il meccanismo per il quale le iniezioni sottocutanee di estratti allergenici siano in grado di desensibilizzare nei confronti di un

determinato allergene è ancora piuttosto sconosciuto e oggetto di ricerche. Apparentemente sembra che tale immunoterapia stimoli la produzione di:

- ◆ IgG capaci di bloccare l'attività delle IgE;
- ◆ linfociti T regolatori dell'infiammazione (detti *T-reg*);
- ◆ un *milieu* citochinico in grado di regolare la risposta Infiammatoria. (Noli C e Toma S,(d) 2011).

Il sito di applicazione ideale per l'immunoterapia deve possedere due caratteristiche: in primo luogo deve contenere un elevato numero di cellule presentanti l'antigene (cellule di Langherans) per migliorare l'efficacia e ridurre la durata del trattamento, e in secondo luogo deve essere un sito non vascolarizzato per minimizzare la distribuzione sistemica di allergeni.

L'epidermide e la mucosa sublinguale, possedendo entrambe queste caratteristiche, sono considerate le sedi elettive per l'immunoterapia allergene-specifica (Senti G et al., 2011).

In particolare la sede sublinguale è preferibile, per certi aspetti, alla sede epidermica. Infatti, nell'immunoterapia sublinguale gli allergeni vengono somministrati sulla mucosa orale in forma di gocce, spray o compresse che permettono anche ai proprietari di poter continuare tale terapia a casa. La somministrazione allergenica sulla mucosa ora è di facile accesso e soprattutto indolore.

La mucosa ha importanti capacità tolerogeniche ed è considerata una mucosa immunologicamente privilegiata, dove gravi allergie o reazioni infiammatorie si verificano molto raramente e dove prevale una buona tolleranza a batteri commensali e proteine alimentari, per la presenza di cellule con proprietà antiinfiammatorie.

La mucosa orale è costituita da un epitelio squamoso, che rappresenta la prima barriera fisica verso gli antigeni. Alfa-amilasi e lipasi invece rappresentano una barriera solubile e il loro compito è

quello di processare diverse proteine. Sempre nella mucosa, sono presenti le cellule dendritiche, con attività immunitaria, che legano l'antigene e secernono IL-10 e TGF-beta1, implicati nella tolleranza verso l'antigene (Novak N et al., 2011).

Si consiglia, per l'immunoterapia sublinguale, di applicare le preparazioni antigeniche nella mucosa orale 1-2 volte al giorno.

L'immunoterapia richiede tempo prima di dimostrare la sua efficacia, che si può apprezzare tra secondo e nono mese di trattamento, con riduzione del prurito che varia dal 30% al 100%. se non si osservano risultati dopo il nono mese di trattamento, il paziente deve essere considerato refrattario all'immunoterapia, evenienza che si osserva in circa un terzo dei soggetti trattati.

Se, invece, il paziente ottiene miglioramenti apprezzabili, l'immunoterapia deve essere continuata per il resto della sua vita, con aggiustamenti della dose e degli intervalli in base alla necessità.

Gli effetti collaterali sono piuttosto rari e includono aumento del prurito il giorno del trattamento : al fine di prevenire questo effetto collaterale, è consigliabile premedicare il paziente con una dose adeguata di farmaci antistaminici un'ora prima della somministrazione della dose immunizzante. Le reazioni anafilattiche sono rare e si manifestano principalmente con sintomi gastroenterici (vomito, diarrea), orticaria e angioedema.

Sebbene tali reazioni non siano di gravità tale da mettere a repentaglio la vita del paziente e siano facilmente controllabili con l'uso di steroidi, in questi pazienti l'immunoterapia deve essere sospesa o continuata con concentrazioni allergeniche ridotte (Noli C e Toma S,(d) 2011).

L'immunoterapia allergen-specifica è clinicamente efficace e mostra benefici che si estendono oltre il periodo di trattamento. A differenza dei farmaci convenzionali, l'immunoterapia modifica la malattia e riduce la sensibilizzazione agli allergeni. I tempi di trattamento

ottimali variano in base agli allergeni e alle preparazioni terapeutiche, ma in termini generali sono considerati ottimali tempi di trattamento di circa 3 anni. Sebbene non sono presenti pubblicazioni sul rapporto tra tempo di trattamento e durata della risposta clinica, è opinione diffusa che il beneficio clinico duri il doppio del tempo di trattamento. Pertanto, il trattamento per un anno porterà benefici per tutto l'anno successivo, mentre il trattamento per tre anni porterà benefici clinici per ulteriori tre anni (Moldaver D e Larchè M, 2011).

PARTE SPERIMENTALE

Capitolo 5. Materiali e metodi

5.1 Territorio e periodo dell'indagine

In questo studio sperimentale sono stati inclusi 152 casi clinici di cani presentati per una visita dermatologica presso l'ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato" di San Piero a Grado. Il periodo di indagine è compreso tra ottobre 2010 e settembre 2014.

I soggetti in esame sono stati sottoposti ad un accurato esame clinico generale e particolare del mantello.

La diagnosi di DA è stata formulata dopo un'attenta valutazione dei dati anamnestici, dei segni clinici e dopo l'esclusione delle principali diagnosi differenziali, giungendo ad una finale diagnosi tramite i criteri di Favrot.

Per questi casi oltre al segnalamento: razza, sesso, età, sono state valutate le lesioni dermatologiche tramite CADESI e il grado del prurito con la scala analogica Rybniceck.

5.2 Visita clinica e criteri di inclusione dei soggetti

I soggetti presentati per una visita dermatologica presso il Dipartimento di clinica Veterinaria sono stati inclusi nello studio dopo la raccolta di un'accurata anamnesi.

L'anamnesi generale ha permesso di raccogliere informazioni relative alla storia dell'animale, alla dieta, all'ambiente in cui vive, al suo impiego, alla presenza di altri animali nel nucleo familiare, alla presenza o assenza di lesioni analoghe in altri animali o persone che vivono nello stesso ambiente.

Questi dati sono risultati utili per stabilire l'ordine di priorità delle possibili diagnosi differenziali.

L'anamnesi specifica riguarda invece in maniera più dettagliata la patologia dermatologica in atto, con riferimento in particolare alla tipologia della lesione, alle sedi iniziali di sviluppo della lesione, alla loro insorgenza e progressione, alla presenza o meno di prurito e alla comparsa di quest'ultimo anteriormente o posteriormente la comparsa delle lesioni.

L'animale è stato poi sottoposto ad un esame obiettivo generale allo scopo di rilevare eventuali coinvolgimenti sistemici o di altre patologie. Concomitanti.

Successivamente è stato eseguito un attento esame dermatologico e dei suoi annessi che ci ha permesso di individuare alcuni segni peculiari (ma non patognomonic) della dermatite atopica:

- ❖ Riscontro di eritema
- ❖ Localizzazione dell'eritema: spazi interdigitali, addome, inguine, torace, ascelle, regione perioculare e perilabiale, collo ventrale, aree flessorie di carpo e tarso
- ❖ Riscontro di congiuntivite ed otite più o meno grave
- ❖ Riscontro di lesioni da auto trauma
- ❖ Riscontro di lesioni secondarie: collaretti epidermici, alopecia, iperpigmentazione, lichenificazione, escoriazioni, scaglie, croste
- ❖ Riscontro di piodermite o dermatite da *Malassezia* secondarie.

5.3 Esclusione delle principali diagnosi differenziali

Una volta individuate le suddette lesioni, sono stati eseguiti tutti i test diagnostici necessari per escludere le varie diagnosi differenziali:

- Raschiati superficiali e profondi per escludere la presenza di *Sarcoptes scabiei*, *Demodex canis*.
- Esame microscopico del pelo o esame colturale per la ricerca di dermatofiti.
- Raccolta di campioni di essudato da papule, pustole, bolle emorragiche ecc. per l'esame citologico.
- Eventuali biopsie per escludere pustolosi sterili immunomediate quali il Pemfigo foliaceo o eritematoso.
- Esami emato-biochimici per escludere la presenza di malattie sistemiche/endocrine.

I raschiati superficiali per la ricerca del *Sarcoptes scabiei* sono stati eseguiti su le papule crostose e il materiale raccolto è stato posto su un vetrino coprioggetti e mescolato con olio minerale. e, in caso di necessità, coperto con una goccia di NaCl al 10%, per permettere la digestione della cheratina e chiarificare il preparato,—dopodiché è stato coperto con un vetrino coprioggetto e osservato al microscopio a 10x. Per escludere la presenza di *Demodex canis* abbiamo effettuato raschiati profondi provocando con una lama di bisturi l'abrasione fino al sanguinamento della cute che poi abbiamo premuto tra pollice e indice per favorire la fuoriuscita degli acari dal follicolo pilifero. Il materiale così raccolto è stato posto in un vetrino portaoggetti con una goccia di olio minerale ed infine coperta con il coprioggetto e osservata al microscopio a 10x.

5.4 Criteri per la diagnosi

La diagnosi di dermatite atopica è stata formulata per quei soggetti che rispondono del tutto o in parte ai criteri di Favrot (tab.1), in particolar modo: quei soggetti che presentano un'insorgenza dei sintomi al di sotto dei 3 anni di età, che manifestano prurito "sine materia" all'esordio, che vivevano prevalentemente in casa, che presentavano eritema in particolare dei padiglioni auricolari, delle zone ventrali del corpo, dei piedi e non presentavano, invece, un coinvolgimento delle regioni dorso-lombari.

Tab.1 Criteri di Favrot (Favrot C, 2009)

Insorgenza dei sintomi al di sotto dei 3 anni di età
Canini che vivono prevalentemente in casa
Prurito sine materia all'esordio
Presenza di infezioni croniche o ricorrenti da lieviti
Interessamento dei piedi anteriori
Interessamento dei padiglioni auricolari
Non interessati i margini dei padiglioni auricolari
Non interessamento delle regioni dorso-lombari

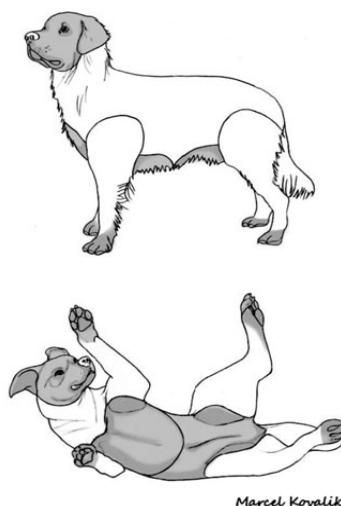
Un altro strumento diagnostico utilizzato per individuare la dermatite atopica è stato un indice di valutazione delle lesioni (CADLI) (Tab. 2).

Tab.2 Canine Atopic Dermatitis Lesion Index (CADLI) (Plant JD et al., 2012)

Canine Atopic Dermatitis Lesion Index (CADLI)

Score each of the indicated body regions, integrating the severity and extent of the lesion(s) in the area.
(0 = none; 1 = mild; 2, 3 = moderate; 4, 5 = severe and extensive lesions)
Consult the CADLI Guide for examples of lesion scoring.

Body region	Erythema excoriation erosion 0-5	Alopecia lichenification hyperpigmentation 0-5
Head & Pinnae		
Forefeet		
Hind feet		
Ventral thorax & Axillae		
Ventral abdomen & Inguinal		
Sub-totals 0-25		
Total 0-50		



Attraverso questo strumento diagnostico abbiamo potuto valutare il tipo di lesione presente: eritema, escoriazione, erosione, alopecia, iperpigmentazione, lichenificazione e la localizzazione anatomica di tali lesioni: testa e orecchie, zampe anteriori, zampe posteriori, torace ventrale ed ascelle, addome ventrale e inguine.

Ad ogni tipo di lesione e corrispettiva localizzazione veniva assegnato un punteggio da 0 a 5, dove 0 indicava l'assenza di lesioni e 5 la presenza e distribuzione più grave.

Infine, tutti i soggetti studiati sono stati inseriti all'interno di tre gruppi:

- < 10 casi lievi
- 11-17 casi moderati
- >18 casi gravi

Infine abbiamo estrapolato dall'anamnesi riportata dal proprietario il grado di prurito presente attraverso la scala analogica di Rybnicek (Tab.3). Questa presenta un punteggio che va da 0 a 10, dove 0 indica la totale assenza di prurito e 10 la presenza di prurito grave.

Tutti i soggetti valutati sono stati inseriti all'interno di tre fasce:

- < 3,5 prurito lieve
- 3,6 - 6,5 prurito moderato
- > 6,6 prurito grave

Tab.3 Scala analogica di Rybnicek (Rybnicek J et al., 2008)



5.5 Prescrizioni terapeutiche

Formulata la diagnosi di dermatite atopica e valutate le lesioni con CADLI e il prurito con Rybnicek, abbiamo unito i risultati e generato tre gruppi di soggetti atopici:

- I. Affetti da patologia lieve
- II. Affetti da patologia moderata
- III. Affetti da patologia grave

Per ogni gruppo abbiamo scelto la terapia più adeguata per gestire, nel miglior modo possibile, le manifestazioni cliniche della malattia allergica.

Per ogni gruppo sono stati raccolti trattamenti scelti e calcolate le prevalenze dei farmaci utilizzati. Infine sono state calcolate le prevalenze delle voci del segnalamento.

Capitolo 6. Risultati

6.1 Prevalenza nei due sessi

Nell'arco dei due anni abbiamo osservato 152 casi di cani affetti da dermatite atopica, di cui 78 erano femmine (27 femmine sterilizzate) e 74 maschi (2 castrati).

SESSO	N° CASI	%
Maschi	74	48.7%
Femmine	78	51.3%

6.2 Prevalenza di razza

La popolazione del nostro studio è composta da 130 cani di razza pura (85,5 %) e 22 cani meticci (14,5 %).

Razza Pura	130	85,5 %
Meticci	22	14,5 %

Per lo studio sono state considerate tutte le razze canine rappresentate da almeno quattro soggetti. Le restanti razze, il cui numero non superava i tre soggetti, non essendo sufficientemente rappresentate, sono state classificate nella categoria “Altre razze”.

Razza	N° soggetti	%
Barboncino	4	2,73%
Beagle	5	3,29%
Boxer	9	5,92%
Bull Terrier	6	3,95%
Bulldog francese	6	3,95%
Bulldog inglese	5	3,29%
Cavalier King Charles	4	2,63%
Jack Russel Terrier	4	2,63%
Labrador	21	13,82%
Pastore Tedesco	16	10,53%
Springer Spaniel	4	2,63%
West Highland W.T.	7	4,61%
Meticcio	22	14,47%
Altre Razze	38	25%

Tra i cani del nostro studio, la razza più rappresentata, dopo i Meticci con 22 soggetti (14,47%), è stata il Labrador con 21 soggetti (13,82%), seguita dal Pastore tedesco con 16 soggetti (10,53%), il Boxer con 9 soggetti (5,92%), il West Highland W.T. con 7 soggetti (4,61%) , il Bulldog francese e il Bull terrier con 6 soggetti (3,95%), il Beagle e il bulldog inglese con 5 soggetti (3,29%) e il Barboncino, Cavalier King Charles, Juck Russel Terrier e Springer Spaniel con 4 soggetti (2,63%)

6.3 Età della diagnosi

L'età dei cani alla diagnosi varia da 6 mesi ad 15 anni.

Attraverso la valutazione dell'anamnesi abbiamo potuto osservare che la maggior parte dei soggetti, 111 (73,03%), ha presentato manifestazioni cliniche della dermatite atopica in età compresa tra i 4 e i 15 anni. Invece 39 cani (25,65%) hanno mostrato i primi sintomi tra 1 e i 3 anni; 2 cani (1,32%) avevano meno di un anno.

Età	N° casi	% casi
> 3 anni	111	73,03%
1-3 anni	39	25,65%
< 1 anno	2	1,32%

Età alla diagnosi	N° casi	% casi
0,5 anni	2	1,32%
1 anno	7	4,61%
2 anni	19	12,5%
3 anni	13	8,55%
4 anni	22	14,47%
5 anni	7	4,61%
6 anni	20	13,16%
7 anni	15	9,87%
8 anni	17	11,18%
9 anni	7	4,61%
10 anni	6	3,95%
11 anni	7	4,61%
12 anni	4	2,63%
13 anni	4	2,63%
14 anni	1	0,66%
15 anni	1	0,66%

6.4 Valutazione mediante CADLI

Tutti i 152 soggetti sono stati valutati con l'indice CADLI, valutando così il tipo di lesione e la localizzazione.

Le lesioni potevano essere localizzate a livello della testa e orecchie, zampe anteriori e posteriori, torace e ascelle, addome e inguine.

Si valutava, infine, il livello di eritema, erosione, escoriazione, alopecia, lichenificazione, iperpigmentazione presenti sul soggetto atopico.

Questa valutazione è stata fatta assegnando un punteggio da 0, assenza di lesioni, a 5 massima presenza ed estensione.

Tutti i punteggi ottenuti sono stati sommati fino ad ottenere un valore numerico finale, il quale poteva rientrare in tre diverse fasce:

- < 10 dermatite atopica lieve
- 11-17 dermatite atopica moderata
- > 18 dermatite atopica grave

Dal nostro studio è emerso che 106 soggetti (69,74%) rientravano nella fascia <10 (DA lieve), 28 soggetti (18,42%) nella fascia tra 11-17 (DA moderata) e infine 18 soggetti (11,84%) nella fascia >18 (DA grave).

Nel nostro gruppo di studio quindi c'è stata una prevalenza di soggetti con dermatite atopica lieve (69,74%), seguiti da soggetti con dermatite atopica moderata (18,42%) e una minore rappresentanza da soggetti con DA grave (11,84%).

CADLI	N° soggetti	%
< 10 (DA lieve)	106	69,74%
11-17 (DA moderata)	28	18,42%
> 18 (DA grave)	18	11,84%

In ultima analisi abbiamo potuto notare che l'iperemia congiuntivale è una manifestazione clinica molto frequente in corso di dermatite atopica.

Nel nostro campione di studio l'iperemia congiuntivale era presente in 64 soggetti (42,10%).

Ad ogni soggetto veniva assegnato un punteggio da 0 a 5 per descrivere il grado di iperemia congiuntivale:

- 1 lieve
- 2-3 moderata
- 4-5 marcata

Dei 64 casi con iperemia congiuntivale, 5 soggetti (7,81%) presentavano un'iperemia lieve, 44 soggetti (68,75%) un'iperemia moderata e 15 soggetti (23,44%) un'iperemia marcata.

Iperemia congiuntivale	N° soggetti	%
1 lieve	5	7,81%
2-3 moderata	44	68,75%
4-5 marcata	15	23,44%

6.5 Valutazione mediante Rybnicek

Particolare attenzione è stata posta alla valutazione del prurito dei soggetti atopici.

In sede d'anamnesi veniva chiesto al proprietario di comunicarci, secondo la propria percezione, un valore numerico che meglio rappresentava il grado di prurito del proprio animale.

Per questo abbiamo utilizzata la scala analogica di Rybnicek, numerata da 0 a 10, dove 0 era l'assenza di prurito e 10 la massima presenza.

Tutti i valori minori di 3,5 indicavano un prurito lieve, quelli compresi tra 3,6-6,5 un prurito moderato e quelli superiori a 6,6 un prurito grave.

Dei nostri 152 casi di studio hanno prevalso 96 soggetti (69,15%) con un punteggio tra 3,6-6,5 (prurito moderato), seguiti da 31 soggetti (20,40%) con punteggio minore di 3,5 (prurito lieve) e infine 25 soggetti (16,45%) con punteggio maggiore di 6,5 (prurito grave).

Rybnicek	N° soggetti	%
< 3,5 prurito lieve	31	20,40%
3,6-6,5 prurito moderato	96	63,15%
> 6,6 prurito grave	25	16,45%

Valore prurito (Rybnicek)	N° soggetti	%
0	11	7,24%
1	1	0,66%
2	4	2,64%
3	14	9,21%
4	32	21,05%
5	42	27,63%
6	23	15,13%
7	13	8,55%
8	8	5,26%
9	0	0
10	4	2,63%

6.6 Scelta del protocollo terapeutico

Per la dermatite atopica, malattia genetica che accompagna l'animale per tutto il corso della propria vita, si necessita un intervento terapeutico studiato sul singolo caso.

Gli interventi terapeutici più comunemente prescritti in corso di allergia sono: la shampoo-terapia, gli antinfiammatori steroidei topici e sistemici, la ciclosporina, la palmitoiletanolamide e in ultimo, da poco sul mercato, l'oclacitinib.

Valutando i nostri 152 soggetti atopici sulla base delle lesioni, li abbiamo potuti classificare in tre gruppi:

- Con lieve dermatite atopica, 106 soggetti (69,74%)
- Con moderata dermatite atopica, 28 soggetti (18,42%)
- Con grave dermatite atopica, 18 casi (11,84%)

In base alla gravità della malattia abbiamo formulato un protocollo terapeutico adatto al singolo caso, compatibile col tipo di lesione, col livello di prurito, con la presenza di infezioni batteriche e da lieviti, con la presenza di otite e congiuntivite concomitante.

Terapia	DA lieve	DA moderata	DA grave
Shampoo-terapia	61 (57,55%)	17 (60,71%)	16 (88,89%)
Antinfiammatori steroidi topici	23 (21,70%)	6 (21,43%)	3 (16,67%)
Antinfiammatori sistemici	54 (50,94%)	15 (53,57%)	13 (72,22%)
Ciclosporina	11 (10,38%)	5 (17,86%)	7 (38,89%)
Oclacitinib	0	0	2 (11,11%)
PEA	7 (6,60%)	2 (7,14%)	1 (5,55%)
Antibiotici	22 (20,75%)	6 (21,43%)	2 (11,11%)
Terapia otologica	44 (41,51%)	15 (42,86%)	10 (55,55%)
Terapia oftalmica	17 (16,04%)	7 (25%)	6 (33,33%)
Antimicotici	1 (0,94%)	0	0
Nessuna terapia	2 (1,89%)	0	0

Capitolo 7. Conclusioni e Discussioni

La dermatite atopica è l'allergia più comune nel cane e colpisce circa il 10-15% della popolazione. (Noli C e Toma S,(d) 2013).

È una dermatosi cronica e recidivante (Olivry T et al., 2010), a carattere pruriginoso ed infiammatorio con predisposizione genetica.

Dai risultati ottenuti da questo studio è emerso che il 51,3% dei soggetti colpiti è di sesso femminile, mentre il restante 48,7% è di sesso maschile.

La letteratura esistente conferma quanto da noi evidenziato, ovvero che la malattia colpisce entrambi i sessi, senza una significativa prevalenza (Noli C e Toma S,(d) 2013).

Riteniamo, alla luce dei nostri risultati e di quelli della letteratura consultata, che il genere non ha importanza nel determinismo della DA e che i risultati delle varie indagini siano influenzati dalla maggiore o minore presenza di uno dei due sessi nella popolazione canina del distretto geografico oggetto dell'indagine.

L'età di diagnosi della DA è compreso tra il primo e il terzo anno di età. Nei nostri casi, contrariamente a quanto riportato nei testi di dermatologia, abbiamo osservato una maggiore incidenza di diagnosi oltre i 3 anni di età (73,03%), seguiti dalla fascia di età tra 1 e 3 anni (25,65%) per finire con soggetti di età inferiore ad un anno / 1,32%).

Nel nostro studio abbiamo osservato una maggiore incidenza in soggetti di razza pura (85,5%) rispetto agli incroci (14,5%).

In letteratura sono riportate numerose predisposizioni di razza, che variano notevolmente da testo a testo: quelle a più alto rischio sono il Pastore Tedesco, l'American Staffordshire, il Labrador e il Golden

Retriver, il Boxer, il Bulldog inglese e francese e diverse altre (Noli C e Toma S,(d) 2013).

Nella nostra statistica le razze più rappresentate sono state: Labrador (14,47%), Pastore Tedesco (10,53%), Boxer (5,92%), West Highland WT (4,61%), Bulldog francese (3,95%).

Al contrario di quanto sostenuto dai testi, l'American Staffordshire e il Golden Retriver, considerate razze ad alto rischio di dermatite atopica, hanno rappresentato fra le nostre razze solo l'1,32%.

I soggetti presi in esame sono stati valutati mediante la scala analogica di Rybniceck, per valutare il grado di prurito presente. Il prurito rappresenta sovente il primo disturbo a manifestarsi nei soggetti atopici, associato all'eritema.

Nella quasi totalità dei nostri animali il prurito era presente, variando da lieve, moderato o grave; ma abbiamo osservato 11 casi (7,24%) in cui il prurito era del tutto assente, nonostante fossero presenti le lesioni classiche della DA.

Altro strumento di valutazione da noi usato è stato il CADLI per definire il tipo di lesione e la localizzazione.

La localizzazione classica della DA vede coinvolti le aree perioculari e perilabiali, i padiglioni auricolari, la faccia ventrale del collo, le ascelle, il torace, l'addome, l'inguine, gli spazi interdigitali, carpi e tarsi.

Il nostro studio dà conferma di queste localizzazioni, con poche eccezioni: nell'1,97% dei casi era presente eritema lombo-sacrale, solitamente area risparmiata in corso di DA, nell'1,31% dei casi gli spazi interdigitali erano risparmiati, mentre comunemente sono coinvolti, nello 0,66% dei casi era presente un moderato prurito ma totalmente assenti lesioni corporee.

I nostri soggetti atopici sono stati trattati con diversi protocolli terapeutici: la shampoo-terapia è stata prescritta nel 61,94% dei casi, gli antinfiammatori steroidei topici nel 21,05% dei casi, gli antinfiammatori steroidei sistemici nel 53,95% dei casi, la ciclosporina nel 15,13% dei casi, gli antibiotici per concomitanti infezioni nel 19,74% dei casi e il trattamento oftalmico è stato prescritto nel 45,39% dei casi.

In relazione a quest'ultimo aspetto, nel nostro studio abbiamo notato che la congiuntivite è una manifestazione clinica molto frequente in corso di DA. Il 42,10% dei casi presentava iperemia congiuntivale lieve, moderata o marcata.

Il nostro lavoro ci ha permesso di valutare, purtroppo solo in due soggetti atopici (1,31%), gli effetti dell'oclacitinib, recentemente autorizzato in Europa.

Contattando i proprietari dopo due mesi di terapia, questi hanno riferito la totale mancanza di effetto della molecola verso il prurito portandoli a riutilizzare il cortisone sistemico, secondo loro più efficace ed economico.

In conclusione, così come riportato in molti testi di dermatologia, anche la nostra indagine conferma che il trattamento della dermatite atopica non è standardizzabile e va formulato sul singolo paziente scegliendo il giusto farmaco e la giusta dose in relazione alle manifestazioni cliniche.

La shampoo-terapia è fondamentale nell'aiutare a lenire la gravità dei segni clinici, ma comunque va associata ad un antinfiammatorio o immunomodulatore nei casi più gravi.

Gli antinfiammatori steroidei e la ciclosporina, secondo il nostro studio, continuano ad essere i farmaci di prima scelta e dimostrano

di essere efficaci nel controllare le manifestazioni cliniche della patologia.

L'Oclacitinib, nel nostro studio è stato valutato solo in due pazienti con risultati deludenti nel controllo del prurito, costoso e ancora adesso difficilmente reperibile.

In conclusione, i farmaci di prima scelta per gestire a lungo termine il soggetto atopico restano, anche secondo la nostra esperienza, i cortisonici e la ciclosporina.

Bibliografia

- Abbas AK, Lichtman AH(a). Immunologia cellulare e molecolare. Masson 2006; 1:3-15
- Abbas AK, Lichtman AH(b). Immunologia cellulare e molecolare. Masson 2006; 2:16-40
- Abbas AK, Lichtman AH(c). Immunologia cellulare e molecolare. Masson 11:247-280
- Abbas AK, Lichtman AH(d). Immunologia cellulare e molecolare. Masson 2006; 12:281-304
- Abbas AK, Lichtman AH(e). Immunologia cellulare e molecolare. Masson 2006; 19:445-466
- Abbas AK, Lichtman AH(f). Immunologia cellulare e molecolare. Masson. 2006; Appendice I: 493-523
- Abramo F, Albanese F, Masserdotti C(a). Malattie dermatologiche: guida alla diagnosi clinica, citopatologica e istopatologica. Indicazioni terapeutiche. UTET 2009; 9:129-148
- Abramo F, Albanese F, Masserdotti C(b). Malattie dermatologiche: guida alla diagnosi clinica, citopatologica e istopatologica. Indicazioni terapeutiche. UTET 2009; 11:161-174
- Ahlstrom LA, Mason KV, Mills PC. Barazone decreases skin lesions and pruritus and increases quality of life in dogs with atopic dermatitis: a randomized, blinded, placebo-controlled trial. J Vet Pharmacol Therap 2010; 33:573-582
- Al-Dajari WI, Grant KR, Ryan K et al. Localization of calcineurin/NFAT in human skin and psoriasis and inhibition of calcineurin(NFAT activation in human keratinocytes by cyclosporine. A. J Invest Dermatol 2002; 118:779-88
- Amatori FM, Meucci V, Giusiani M, Corazza M, Giorgi M. Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of cyclosporine in dogs. Veterinary Record 2004; p.180-1
- Anand KM, Routhers JM. Hypersensitivity Reactions, Immediate. Allergy and Immunology. 2010

- Ascher F, Maynard L, Laurent J et al. Controlled trial of ethyl lactate and benzoyl peroxide shampoos in the management of canine surface pyoderma and superficial pyoderma. *Advances in Veterinary Dermatology* I, Bailliere Tindall, 1990; pag. 375-382
- Atopica [product insert]. Greensboro (NC): Novartis Animal Health; 2007
- Atopica for cats [product insert]. Greensboro (NC): Novartis Animal Health; 2011
- Banovic F, Bozic F, Lemo N. In vitro comparison of the effectiveness of polihexanide and chlorhexidine against canine isolates of *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. *Vet Dermatol* 2013; 24:409-415
- Bardan et al. Antimicrobial peptides and the skin. *Expert Opin Biol Ther*, 2004; 4:543-549.
- Baumer W, Kietzmann M. Effects of cyclosporin A and cilomilast on activated canine, murine and human keratinocytes. *Vet Dermatol* 2007; 18(2):107-14
- Beale KM, Kunkle GA, Ginn P et al. Safety of long-term administration of a 0,01% fluocinolone shampoo in allergic dogs. *Vet Dermatol* 2000; 11:3-7
- Bensignor E, Olivry T. Treatment of localized lesions of canine atopic dermatitis with tacrolimus ointment: A blinded randomized controlled trial. *Veterinary Dermatology* 2005; 16:52-60
- Bizikova P, Linder KE, Paps JS et al. Effect of a novel topical diester glucocorticoid spray on immediate and late phase cutaneous allergic reactions in maltese-beagle atopic dogs: A placebo-controlled study. *Veterinary Dermatology* 2010; 21:70-9
- Blaskovic M, Rosenkrantz W, Neuber A, Sauter-Louis C, Muller RS. The effect of a spot-on formulation containing polyunsaturated fatty acids and essential oils on dogs with atopic dermatitis. *Vet J* 2014; 199:39-43
- Bloom P. Nonsteroidal, nonimmunosuppressive therapy for pruritus. *Vet Clin Small Anim* 2013; 43:173-187
- Bond R, Loeffler A. What'a happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. *J Sm Anim Pract* 2012; 53:147-154
- Bryden SL, Burrows AK, Renè C et al. Efficacy of a 0,0584% hydrocortisone aceponate spray (Cortavance®) for the management of pedal pruritus in atopic dogs: A pilot study (abstract). *Veterinary Dermatology* 2008; 19:40
- Buys LM. Treatment options for atopic dermatitis. *Am Fam Physician* 2007; 15(75):523-8

- Carlotti DN. How to treat atopic dermatitis in dogs. *Dermatology* 2009; p. 268-75
- Cerio R, Dohil M, Jeanine D et al. Mechanism of action and clinical benefits of colloidal oatmeal for dermatologic practice. *J Drugs Dermatol* 2010; 9:1116-1120
- Choc ML. Bioavailability and pharmacokinetics of cyclosporine formulations: Neoral vs Sandimmune. *Int J Dermatol.* 1997; 36:1-6
- Ciprandi G, Pronzato C, Passalacqua G, Ricca V, Grogan J, Mela GS, Varese P, Bertolini C, Bagnasco M, Canonica GW. Topical azelastine reduced eosinophil activation and intercellular adhesion molecule-1 expression on nasal epithelial cells: an antiallergic activity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996; 98:1088-1096
- Collard WT, Hummel BD, Fielder AF, King VL et al. The pharmacokinetics of oclacitinib maleate, a Janus kinase inhibitor, in the dog. *J Vet Pharmacol Ther*, 2014; 37:279-85
- Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM et al. A blinded, randomized, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of the Janus kinase inhibitor oclacitinib (Apoquel ®) in client-owned dogs with atopic dermatitis. *J Vet Dermatol* 2013, 24:587-97 e 141-2
- Cosgrove SB, Wren JA, Cleaver DM et al. Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine allergic dermatitis. *Vet Dermatol* 2013, 24:479-487
- Curtis C. Use and abuse of topical dermatological therapy in dogs and cats. Part I. shampoo-therapy. *In practice* 1998; 20:244-251
- Curtis CF. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mites infestations in dogs and cats. *Vet Dermatol* 2004; 15:108-114
- Dahlinger J, Gregory C, Bea J. Effect of ketoconazole on cyclosporine in healthy dogs. *Vet Surg* 1998; 27:64-8
- Daigle JC, Hosgood G, Foil CS et al. Effect of cimetidine on pharmacokinetics of orally administered cyclosporine in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2001; 7:1046-50
- De Jaham C. Effects of an ethyl-lactate shampoo in conjunction with a systemic antibiotic in the treatment canine superficial bacterial pyoderma in an open-label, non placebo-controlled study. *Vet Ther* 2003; 4:94-100
- De Mora F, Garcia G, Ferrer L, Arboix M. Canine cutaneous mast cell dispersion and histamine secretory characterization. *Vet Immunol. Immunopathol* 1993; 39:421-429

- DeBoer DJ, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XV): Fundamental concepts in clinical diagnosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81:271-6
- Dip R, Carmichael J, Letellier I, Strehlau G, Roberts E, Bensignor E, Rosenkrantz W. *Jurnal BMC Res Vet.* 2013; 9:173
- Ducharme MP, Warbasse LH, Edwards DJ. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after the administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57:485-91
- Ellis CN, Fradin MS, Messina JM et al. Cyclosporine for plaque-type psoriasis: result of a multidose, double blind trial. *N Engl J Med* 1991; 324:277-84
- Emerson JL, Cross RF. The distribution of mast cells in normal canine skin. *Am .J. Vet . Res.* 1965; 26:1379-1382
- European Medicines Agency. Science Medicines Health. EMA/436990/2013
- Ewert G, Daems T. Traitement de la dermite atopique canine par un copolymere d'acides gras: Une etude clinique comparative en double aveugle [treatment of canine atopic dermatitis by a fatty acid copolymer. Comparative double blind study]. *Pratique Médicale Et Chirurgicale De l'Animal De Compagnie* 2001; 36:401-8
- Fantini F, Pincelli C, Romualdi P. Substance P levels are decreased in the skin of patient with atopic dermatitis *Clin Exp Dermatol* 1995; 6:462
- Favrot C, JSteffan J, Seewald W et al. A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology* 2010; 21:23-30
- Febbo E, Vezzoni A. *Prontuario terapeutico veterinario. Medicina del cane e del gatto. Medicina degli animali esotici. Edizioni veterinarie* 6 th Ed. 2014; Pag. 121-125 e 451-6
- Fellman CL, Stokes JV, Archer TM et al. Cyclosporine A affects the in vitro expression of T cell activation-related molecules and cytokines in dogs. *Vet Immunol Immunophatol* 2011; 140(3-4):175-80
- Font A, Bardagi M, Mascort J. Treatment with oral cyclosporin A of a case of vesicular cutaneous lupus erythematosus in a rough collie. *Vet Dermatol* 2006; 17(6):440-2
- Fontaine J, Heimann M. Idiopathic facial dermatitis of the Persian cat: three cases controlled with cyclosporine. *Vet Dermatol* 2004; 15:64
- Franc M, Cadiergues MC. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. *Vet Parasitol* 1999; 81: 341-346

- Fukunaga K., Orito K. Time-course effects of St John's wort on the pharmacokinetics of cyclosporine in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2011; 1365-2885
- Gadeyne C, Little P, King VL et al. Efficacy of oclacitinib (Apoquel®) compared with prednisolone for the control of pruritus and clinical signs associated with allergic dermatitis in client-owned dogs in Australia. *J Vet Dermatol* 2014
- Galli SJ, Iemura A, Garlick DS, Gamba Vitaolo C, Zsebo KM, Andrews RG. Reversible expansion of primate mast cell populations in vivo by stem cell factor. *J. Clin. Invest.* 1993; 91:148-152
- Gell PGH, Coombs RRA, et al. *Clinical Aspects of Immunology*. Oxford, England: Blackwell; 1963
- Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. *Immunologia* Cap 15 Migrazione leucocitaria e infiammazione pg 378-379
- Greci AM. *Dermatologia dei piccoli animali* Marrapese editore 1982; 30: 389
- Gridelli B, Scanlon L, Pellicci R et al. Cyclosporine metabolism and pharmacokinetics following intravenous and oral administration in the dog. *Transplantation* 1986; 41:388-91
- Griffin CE, DeBoer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): Clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001; 81:255-69
- Gross TL, Walder EJ, Ihrke PJ. Subepidermal bullous dermatosis due to topical corticosteroid therapy in dogs. *Veterinary Dermatology* 1997; 8:127-31
- Guaguère E, Steffan J, Olivry T et al. Cyclosporine A: a new drug in the field of canine dermatology. *Veterinary Dermatology* 2004; 15: 61-74
- Guaguere E. Efficacy of cyclosporin in the treatment of idiopathic sterile nodular panniculitis in two dogs [abstract]. *Vet Dermatol* 2000; 11(1):22
- Guaguere E. Topical treatment of canine and feline pyoderma. *Vet Dermatol* 1996; 7:145-151
- Guardabassi L. In vitro antimicrobial activity of Zincoseb shampoo against pathogenic organisms associated with dog skin infections. *ICF Bulletin*
- Gupta M, Gupta A. The use of antidepressant drugs in dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15:512-8
- Halliwell R. Revised nomenclature for veterinary allergy. *Veterinary immunology and Immunopathology* 2006; 114:2007-8

- Hanifin JM, Chan S. Biochemical and immunologic mechanism in atopic dermatitis: new targets for emerging therapies. *J.Am. Acad Dermatol.* 1999; 41:72-77
- Hansson H, Bergvall K, Bondesson U et al. Clinical pharmacology of clemastine in healthy dogs. *Veterinary Dermatology* 2004; 15:152-8
- Hebert MF. Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1997; 27:201-14
- Hill PB, Martin Rj. A review of mast cell biology. *Vet Dermatology* 1998; 9:145
- Hofmeister EH, Egger CM. Evaluation of diphenhydramine as a sedative for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2005; 226:1092-4
- Jacob T, Udey MC: Epidermal Langerhans cells: from neuron to nature's adjuvants. *Adv Dermatol* 1999; 14:209
- Jeffers JG. Topical therapy for drug-resistant pyoderma in small animals. *Vet Clin Small Anim* 2013; 43:41-50
- Jutel M, Akdis CA. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2011; 66:725-732
- Kaplan AP, Kuna P. Chemokines and the late phase reaction. *Allergy* 1998; 53:27-32
- Katayama M, Igarashi H, Fukai K et al. Fluconazole decreases cyclosporine dosage in renal transplanted dogs. *Res Vet Sci* 2010; 89(1):124-5
- Katayama M, Igarashi H, Tani K et al. Effect of multiple oral dosing of fluconazole on the pharmacokinetics of cyclosporine in healthy beagles. *J Vet Med Sci* 2008; 70(1):85-8
- Kimura T, Doi K. Dorsal skin reactions of hairless dogs to topical treatment with corticosteroids. *Toxicologic Pathology* 1999; 27:528-35
- Klein PA, Clark RA. An evidence-based review of the efficacy of antihistamines in relieving pruritus in atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1999; 135:1522-5
- Kloos I, Straubinger RK, Werckenthin C, Mueller RS. Residual antibacterial activity of dog hairs after therapy with antimicrobial shampoos. *Vet Dermatol* 2013; 24:250-254
- Koro O, Furutani K, Hide M, Yamada S, Yamamoto S. Chemical mediators in atopic dermatitis: involvement of leukotriene B4 released by a type 1

allergic reaction in pathogenesis of atopic dermatitis J. Allerg. Clin. Immunol. 1999; 103:663-670

- Koro O, Furutani K, Hide M, Yamada S, Yamamoto S. Chemical mediators in atopic dermatitis: involvement of leukotriene B4 released by a type one allergic reaction in the pathogenesis of atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 1999; 89:1010-1021
- Ku YM, Min DI, Flanigan M. Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of microemulsion cyclosporine and its metabolite in healthy volunteers: does formulation differences matter? J. Clin Pharmacol 1998; 38:959-65
- Kwochka KW, Kowalski JJ. Prophylactic activity of four antibacterial shampoos against *Staphylococcus intermedius* in dogs. Am J Vet Res 1991; 52:115-118
- Lauerma A., Surber C., Maibach H. Absorption of topical tacrolimus (FK506) in vitro through human skin: comparison with cyclosporin A. Skin Pharmacol 1997; 10:230-4
- Lee CE, Neuland ME, Teaford HG. Interleukin-6 released in the cutaneous response to antigen challenge in atopic individuals. J. Allergy. Clin. Immunol. 1992; 89:1010-1021
- Leung DYM. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic allergic diseases. J Allergy Clin . Immunol 1995; 96:302-319
- Lippert U, Kruger-Krasagakes S, Moller A, Kiessling U, Czarnetzki BM. Pharmacological modulation of IL-6 and IL-8 secretion by the H1-antagonist decarboethoxyloratadine and dexamethasone by human mast and basophilic cell lines. Exp. Dermatol. 1995; 4:272-276
- Lloyd DH, Lamport A. Antimicrobial activity in vitro of shampoos containing chlorhexidine and miconazole combined, and chlorhexidine alone. Vet Dermatol II 2000;(Suppl. I):54
- Lloyd DH, Lamport Al. Activity of chlorhexidine shampoos in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. Vet Rec 1999; 144:536-537
- Loeffler A, Cobb MA, Bond R. Comparison of a chlorhexidine and a benzoyl peroxide shampoo as sole treatment in canine superficial pyoderma. Vet Rec 2011; 169:249-253
- Loflath A, von Voigts-Rhetz A, Jaeger K et al. The efficacy of a commercial shampoo and whirlpooling in the treatment of canine pruritus, a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. Vet Dermatol 2007; 18:427-431

- London CA, Galli SJ, Yuuki T, Hu ZQ, Helfand SC, Geissler EN. Spontaneous canine mast-cell tumor express tandem duplications in the proto-oncogene c-kit. *Exp.Hematol* 1999; 27:689-697
- Lortz J, Favrot C, Mecklenburg L et al. A multicentre placebo-controlled clinical trial on the efficacy of oral cyclosporine A in the treatment of canine idiopathic sebaceous adenitis in comparison with conventional topical treatment. *Vet Dermatol* 2010; 6:593-601
- Maeda H, Takahashi M, Nakashima K et al. Treatment of five dogs with pemphigus foliaceus with cyclosporine and prednisone. *Vet Dermatol* 2008; 19:51
- Marsella R, Nicklin CF. Sulphido -leukotriene production from peripheral leukocytes and skin in clinically normal dogs and house dust mite positive atopic dogs. *Vet Dermatol.* 2001; 12:3-12
- Marsella R, Olivry T. The ACVD task and force on canine atopic dermatitis (XXII): nonsteroidal, anti-inflammatory pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81:331-4
- Marsella R. Calcineurin inhibitors: a novel approach to canine atopic dermatitis. *J Am Anim Hosp Assoc* 2005; 41:92-7
- Mathews K.A., Sukhiani H.R. Randomised controlled trial of cyclosporine for the treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211:1249-53
- Matsuda S, Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology* 2000; 47:119-25
- Maynard L, Remè CA, Viaud S. Comparison of two shampoos for the treatment of canine *Malassezia* dermatitis: a randomised controlled trial. *J Small Anim Pract* 2011; 52:566-572
- McEwen BJ. Eosinophils- a review. *Vet. Res.Comm.* 1992; 16:11-44
- Miller A, Schick A, Booth D et al. Absorption of transdermal cyclosporine versus orally administered cyclosporine in six healthy cats. In: *Proceeding North American Veterinary Dermatology Forum. Galveston (TX).* 2011; pag. 198
- Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Dermatologic Therapy. In: *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. 7 th Ed., St. Louis: Elsevier, 2012:108-183*
- Miller WH, Griffin CE, Kampbell KJ. *Veterinary Dermatology. 7 th Ed 2013. Elsevier Mosby*
- Modlin RL. Lymphocytes. In: *Freedberg IM, et al (eds): Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine V. McGraw-Hill, New York, 1999; p.400*

- Moldaver D, Larchè M. Immunotherapy with peptides. *Allergy* 2011; 66:784-791
- Moore PF, Rossito PV, Danilenko DM, Wielenga JJ, Raff RF, Stevens E. Monoclonal antibodies specific for canine CD4 and CD8 define functional T lymphocyte subset and high density expression of CD4 b canine neutrophilis. *Tissute Antigènes* 1992; 40:75-85
- Moriello Ka. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats; review of published studies. *Vet Dermatol* 2004; 15:99-107
- Mosman TR, Cherwinsky H, Bond MW, Gieldin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T-cell clone .1. Definition according profiles of lymphokine activities and secreted proteins.*J.Immunol.* 1986; 136:2348-2357
- Mouatt JG. Cyclosporine and ketoconazole interaction for treatment of perianal fistulas in the dog. *Aust Vet J* 2002; 80:207-11
- Muller RS, Bergvall K, Bensignor E et al. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. *Vet Dermatol* 2012; 23:330-341
- Murayama N, Nagata M, Terada Y et al. Efficacy of a surgical scrub including 2% chlorhexidine acetate for canine superficial pyoderma. *Vet Dermatol* 2010; 21:586-592
- Murayama N, Nagata M, Terada Y et al. In vitro susceptibilities for *Staphilococcus pseudintermedius* isolated from canine superficial pyoderma in Japan. *Vet Dermatol* 2013; 24:126-130
- Nagata M, Murayama N, Shibata K. Efficacy of Nolvasan Surgical Scrub containing 2% chlorhexidine acetate in topical management of canine superficial pyoderma: a randomized double-blinded, controlled study. *Jap J Vet Dermatol* 2006; 12:1-6
- Negre A, Bensignor E, Guillot J. Evidence based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for *Malassezia dermatitis* in dogs. *Vet Dermatol* 2008; 20:1-12
- Nickoloff BJ. *Dermal Immune System*. CRC Press, Boca Raton 1993
- Nimmo Wilkie JS, Yager JA, Eyre P, Parker WM. Morphometric analyses of the skin of dogs with atopic dermatitis and correlations with cutaneous and plasma histamine and total serum IgE. *Vet. Pathol.* 1990; 27:179-186
- Noli C e Ghibaudo G. *Dermatologia clinica e microscopica del cane e del gatto*. Poletto editore 2009; 9:114-115
- Noli C e Toma S(a). *Dermatologia del cane e del gatto*. Poletto editore 2011; 1:2-10

- Noli C e Toma S(b). Dermatologia del cane e del gatto. Poletto editore 2011; 3:14-28
- Noli C e Toma S(c). Dermatologia del cane e del gatto. Poletto editore 2011; 34:275-294
- Noli C e Toma S(d). Dermatologia del cane e del gatto. Poletto editore 2011; 35:295-324
- Noli C e Toma S(e). dermatologia del cane e del gatto. Poletto editore 2011; 31:250-253
- Noli C e Toma S. Three cases of immune-mediated adnexal skin disease treated with cyclosporin. Vet Dermatology 2006; 17(1): 85-92
- Noli C, Miolo A, Medori C, Schievano C and the Skinalia Clinical Research Group. Efficacy of oral administration of ultra-micronized palmitoylethanolamide in canine non-seasonal atopic dermatitis: an open label multicentric field study. 27th Congress ESVD/ECVD, Salzburg, 11-13 September 2014
- Novak N, Bieber T, Allam JP. Immunological mechanisms of sublingual allergen-specific immunotherapy. Allergy 2011; 66:733-739
- Nuttall T, McEwan N. Objective measurement of pruritus in dogs: A preliminary study using activity monitors. Veterinary Dermatology 2006; 17:348-51
- Nuttall T, Mueller R, Bensignor E et al. Efficacy of a 0,0584% hidro cortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis; A randomised, double blind, placebo-controlled trial. Veterinary Dermatology 2009; 20:191-8
- Nuttall TJ, McEwan NA, Bensignor E, Cornegliani L, Lowenstein C and Rème CA. Comparable efficacy of a topical 0,0584% hidro cortisone aceponate spray and oral ciclosporin in treating canine atopic dermatitis. Veterinary Dermatology 2011; 23:4-e2
- Odore R, Colombatti Valle V, Re G. Efficacy of Chlorhexidine against some strains of cultured and clinically isolated microorganism. Vet Res Commun 2000; 24:229-238
- Ohmori K, Tanaka A, Makita Y et al. Pilot evaluation of the efficacy of shampoo treatment with ultrapure soft water for canine pruritus. Vet Dermatol 2010; 21:477-483
- Olivry T e Bizikova P. A systematic review of randomized controlled trials for prevention or treatment of atopic dermatitis in dogs. 2008-2011 update. Vet Dermatol 2013; 24:97-117
- Olivry T, Dean GA, Tompkins MB, Dow JL, Moore PF. Toward a canine model of atopic dermatitis: amplification of cytokine gene transcript in the

skin of atopic dogs. *Exp. Dermatol.* 1999; pag.204-211

- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2010; 21:233-248
- Olivry T, Foster AP, Mueller RS et al. Interventions for atopic dermatitis in dogs: A systematic review of randomized controlled trials. *Veterinary Dermatology* 2010; 21:4-22
- Olivry T, Mueller RS. The International Task Force On Canine Atopic Dermatitis. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2003; 14:121-46
- Olivry T, Naydan DK, Moore PF. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis. *Am. J. Dermatopathol* 19:477-486
- Ostlere LS, Cowen T, Rustin MH. Neuropeptides in the skin of patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 1995; 6:462-7
- Palmeiro BS, Morris DO, Goldschmidt MH et al. Cutaneous reactive histiocytosis in dog: a retrospective evaluation of 32 cases. *Vet Dermatol* 2007; 18:332-40
- Paradis M, Lemay S, Scott DW. The efficacy of clemastine (Tavist), a fatty acid containing product (Derm-Caps), and the combination of both products in the management of canine pruritus. *Veterinary Dermatology*. 1991; 2:17-20
- Paradis M, Scott DW, Giroux D. Further investigations on the use of nonsteroidal and steroidal antiinflammatory agents in the management of canine pruritus. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1991; 27:44-8
- Park C, Yoo JH, Kim HJ et al. Combination of cyclosporin A and prednisolone for juvenile cellulitis concurrent with hindlimb paresis in 3 English cocker spaniel puppies. *Can Vet J* 2010; 51(11):1265-8
- Patterson S. 1994. Use of antihistamines to control pruritus in atopic dogs. *J. Sm. Anim. Pract.* 1994; 35:415-419
- Perrins N, Bond R. Synergistic inhibition of the growth in vitro of *Microsporum canis* by miconazole and chlorhexidine. *Vet Dermatol* 2001; 14:99-102

- Piekutowska A, Pin D, Reme CA et al. Effects of a topically applied preparation of epidermal lipids on the stratum corneum barrier of atopic dogs. *J Comp Path* 2008; 138:197-203
- Pietschmann S, Meyer M, Voget M, Cieslicki M. The joint in vitro action of polymyxin B and miconazole against pathogens associated with canine otitis externa from three European countries. *Vet Dermatol* 2013; 24:439-447
- Plager DA, Stuart S, Gleich GJ. Human eosinophile granule: major basic protein and its novel homolog. *Allergy* 1998; 53:33-40
- Plant JD. Correlation of observed nocturnal pruritus and actigraphy in dogs. *Veterinary Record* 2008; 162:624-5
- Plumb DC. Plumb's veterinary drug handbook. 6 th edition. Ames (IA): PharmaVet; 2008
- Radowicz SN, Power HT. Long term use of cyclosporine therapy in the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2005; 16(2): 81-6
- Radwanski NE, Cerundolo R, Shofer FS et al. Effects of powdered whole grapefruit and metoclopramide on the pharmacokinetics of cyclosporine in dogs. *Am J Vet Res* 2011; 72(5):687-93
- Razin E, Pecht I, Riveira J. Signal transduction in the activation of mast-cells and basophils, *Immunol Today* 1995; 16:370
- Rème C e Dufour P. Repeated daily application of 0,0584% hidrocortisone aceponate spray for 8 consecutive weeks in dogs: Impact on skin thickness (abstract). *Veterinary Dermatology* 2008; 19(Suppl.1):47
- Reme C. Antimicrobial efficacy of tar and non tar antiseborrhoeic shampoos in dogs. In: *Advances in Veterinary Dermatology* 5, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2005: 383-385
- Ressel L. Principi di identificazione morfologica in citologia nel cane e nel gatto. Poletto 2010. Pag. 19-129
- Rieg S, Steffen H, Seeber S et al. In sweat of patients with atopic dermatitis correlates with an impaired innate defense of human skin in vivo, *J Immunol* 2005; 174(12):8003-8010
- Ring J, Gutermuth J. 100 years of hyposensitization: history of allergen-specific immunotherapy (ASIT). *Allergy* 2011; 66:713-724

- Rivierre C, Dunston SM, Olivry T. Effects of a 1 per cent hydrocortisone conditioner on the prevention of immediate and late-phase reactions in canine skin. *Vet Rec* 2000; 147:739-742
- Robson DC, Burton GG. Cyclosporin: applications in small animal dermatology. *Vet Dermatol* 2003; 14(1):1-9
- Rocklin RE. Histamine and H2 Antagonists in Inflammation and Immunodeficiency. Marcel Dekker, New York. 1990
- Rosati P, Colombo R, Maraldi N. *Istologia*. 5 Ed, edi-ermes, 2006; 12:257-298
- Rosenkrantz W. Practical applications of topical therapy for allergic, infectious and seborrheic skin disorders. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21: 106-116
- Rosenkrantz WS, Griffin CE, Barr RJ. Clinical evaluation of cyclosporine in animal models with cutaneous immune mediated disease and epitheliotropic lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 1989; 25:377-84
- Rossi N. Diagnosi e terapia delle reazioni avverse al cibo: nuove prospettive. *Exclusion*
- Rossi R, Johansson O. Cutaneous innervations and the role of cutaneous inflammation: a minireview. *Eur J Dermatol* 1998; 8:299-306
- Ruzicka T, Ring J. Enhanced releasability of prostaglandin E2 and leukotrienes B4 and C4 from leukocytes of patient with atopic eczema. *Acta . Dermatol. Venereol.* 1987; 67:469-475
- Ruzicka T. Leukotrienes in atopic eczema. *Acta Dermatol. Venereol.(Stockh.)*. 1989; 144:48-49
- Sævik BK, Bergvall K, Holm BR et al. A randomized, controlled study to evaluate the steroid sparing effect of essential fatty acid supplementation in the treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 2004; 15:137-45
- Sakaeda T, Iwaki K, Kakumoto M et al. Effect of micafungin on cytochrome P450 3A4 and multidrug resistance protein 1 activities, and its comparison with azole antifungal drugs. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57:759-64
- Schechter NM, Slavin D, Fetter RD, Lazarus GS, Fraki JE. Purification and identification of two serine class proteinases from dog mast cells biochemically and immunologically similar to human proteinase tryptase and chymase. 1988
- Schilling J, Mueller RS. Double-blinded, placebo-controlled study to evaluate an antipruritic shampoo for dogs with allergic pruritus. *Vet Rec* 2012; 171:97

- Schmidt V, McEwan N, Volk A et al. The glucocorticoid sparing efficacy of Phitopica in the management of canine atopic dermatitis: A randomised, double blind, placebo controlled trial. *Veterinary Dermatology* 2010; 21:91-104
- Schmiedlin-Ren P, Edwards DJ, Fitzsimmons ME et al. Mechanisms of enhanced oral availability of CYP3A4 substrates by grapefruit constituents. Decreased enterocyte CYP 3A4 concentrations and mechanism-based inactivation by furanocoumarins. *Drug Metab Dispos* 1997; 11:1228-33
- Scott DW, Buerger R.G. Nonsteroidal antiinflammatory agents in the management of canine pruritus. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1998; 24:425-428
- Scott DW, Millier WH, Cayatte SM. A clinical study on the effect of two commercial veterinary benzoyl peroxide shampoos in dogs. *Canine Practice* 1994; 19:7-10
- Scott DW. Observation on canine atopy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1981; 17:91-100
- Sell S, Rich RR, Fleisher TA et al. *Clinical Immunology: Principles and Practice*. ed. St. Louis, Mo: Mosby-Year Book; 1996; 449-77
- Senti G, von Moos S, Kundig TM. Epicutaneous allergen administration: is this the future of allergen-specific immunotherapy? *Allergy* 2011; 66:798-809
- Shibasaki F, Hallin U, Uchino H. Calcineurin as a multifunctional regulator. *J Biochem* 2002; 131:1-15
- Simon FER. Antihistamines. In: Middleton Jr., E. (Ed), *Allergy: Principles and Practice*. Mosby, St. Louis, 1988; pag.612-637
- Skuba EV, Clark EG, Joffe DJ, Hanningan MM. Eosinophil density as a distinguishing feature between atopic dermatitis and dermatitis due to food adverse reactions in dogs in a flea scarce environment. In: *Proc. Ann. Meeting Amer. Acad. Vet. Dermatol. Amer. Coll. Vet. Dermatol.*, Norfolk, VA, 2001; pag. 39
- Small P, Biskin N, Barret D. Effects of intensity of early response to allergen on the late phase of both the nose and the skin. *Ann. Allergy* 1994; 73:252-258
- Sousa CA, Marsella A. The ACDV(II) task force on canine atopic dermatitis: genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81:153-157
- Steffan J, Strehlau G, Maurer M et al. Cyclosporine A pharmacokinetics and efficacy in the treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27:231-8

- Steinhoff M, Stander S, Seeliger S et al. Modern aspect of cutaneous neurogenic inflammation. *Arch. Dermatol.* 2003; 139:1479-1488
- Sumimoto S, Kawai M, Kasajima Y, Hamamoto T. Increased plasma tumor necrosis factor- α concentration in atopic dermatitis. *Arch. Dis. Child.* 1992; 67:277-279
- Taylor AL, Watson CJE, Bradley JA. Immunosuppressive agents in solid organ transplantation: mechanism of action and therapeutic efficacy. *Crit Rev Oncol ematol* 2005; 56:23-46
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Parassitologia e Malattie parassitarie degli animali.* EMSI 2010; 11:679-754
- Thelen A, Mueller RS, Linek M et al. Influence of food intake on the clinical response to cyclosporin A in canine atopic dermatitis. *Vet Rec* 2006; 159(25): 854-6
- Thomas RC, Logas D, Radosta L et al. Effects of a 1% hydrocortine conditioner on haematological and biochemical parameters, adrenal function testing and cutaneous reactivity to histamine in normal and pruritic dogs. *Vet Dermatol* 1999; 10:109-116
- Tomita Y. Melanocyte stimulating properties of arachidonic acid metabolites: possible role in post-inflammatory pigmentation. *Pigment Cell. Res* 1992; 5:357-361
- Tretter S, Mueller RS. The influence of topical unsaturated fatty acids and essential oils on normal and atopic skin. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47:236-240
- Valentine BK, Dew W, Yu A et al. In vitro evaluation of topical biocide and antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *Vet Dermatol* 2012; 23:493-498
- Varney V, Gaga M, Frew AJ, DeVos C, Kay AB. The effect of a single oral dose of prednisolone or cetirizine on inflammatory cells infiltrating allergen-induced cutaneous late reaction in atopic subjects. *Clin. Exp. Allergy* 1996; 26:68-78
- Venkataramanan R, Wang CP, Habucky K et al. Species specific cyclosporine metabolism. *Transplant Proc* 1988; 20:680
- Viaud S, Maynard L, Sanquer A. Comparison of two shampoos as sole treatment for canine bacterial overgrowth syndrome. *Vet Rec* 2012; 170:675-680
- Von Bubnoff D, Geiger E, Bieber T. Antigen-presenting cells in allergy. *J Allergy Clin Immunol.* Sep 2001;108(3):329-39

- Wacher VJ, Silverman JA, Zhang Y et al. Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics. *J Pharm Sci* 1998; 87:1322-9
- Whalen RD, Tata PN, Burckart GJ et al. Species differences in the hepatic and intestinal metabolism of cyclosporine. *Xenobiotica* 1999; 29:3-9
- Willemse T. Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J. small animal pract.* 1986; vol 27:771-778.
- Wilson LS, Rosenkrantz WS, Roycroft LM. Zinc-carnosine and vitamin E supplementation does not ameliorate gastrointestinal side effects associated with cyclosporine therapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 2011;(1): 53-60
- Young R, Buckley L, McEwan N, Nuttal T. Comparative in vitro efficacy of antimicrobial shampoos: a pilot study. *Vet Dermatol* 2012; 23:36-40

Ringraziamenti

Ringrazio l'Università di Pisa che mi ha accolta tre anni fa, permettendomi di concludere al meglio i miei studi.

In particolare il mio ringraziamento più sentito va al Prof. Michele Corazza che mi ha seguita attentamente per due anni, insegnandomi un mondo a me sconosciuto, quello della Dermatologia.

Ringrazio tutti i colleghi che ho incontrato qui a Pisa, non credendo di legarmi così tanto a loro. Invece è successo.

Un ringraziamento speciale alla mia Super Famiglia, sempre presente, anche se purtroppo distante.

Mio padre Pippo, mia madre Pina, mia sorella Alessia, mia nonna Anna, mia nonna Lilla, mio zio Rino con Enza...

Loro, il mio punto di riferimento, la mia ragione di vita.

Grazie a loro ho potuto iniziare e concludere i miei studi realizzando il mio desiderio.

Infine ringrazio me stessa, per aver avuto il coraggio di cambiare, per la determinazione e la forza che non credevo di avere e per la Donna che oggi sono diventata.